



RODRIGO CARDOSO SANTOS

EFEITOS DA INIBIÇÃO DA FOSFODIESTERASE-5 SOBRE A
DISFUNÇÃO DIASTÓLICA DO VENTRÍCULO ESQUERDO EM
PACIENTES COM HIPERTENSÃO ARTERIAL RESISTENTE

*PHOSPHODIESTERASE 5 INHIBITION IMPROVES LEFT
VENTRICLE DIASTOLIC DYSFUNCTION IN RESISTANT
HIPERTENSIVE PATIENTS*

Campinas
2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

RODRIGO CARDOSO SANTOS

EFEITOS DA INIBIÇÃO DA FOSFODIESTERASE-5 SOBRE A DISFUNÇÃO
DIASTÓLICA DO VENTRÍCULO ESQUERDO EM HIPERTENSOS
RESISTENTES

ORIENTAÇÃO: Prof. Dr. Heitor Moreno Junior

*PHOSPHODIESTERASE 5 INHIBITION IMPROVES LEFT VENTRICLE
DIASTOLIC DYSFUNCTION IN RESISTANT HYPERTENSIVE PATIENTS*

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP para obtenção de
título de Doutor em Farmacologia.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA POR
RODRIGO CARDOSO SANTOS, E ORIENTADO PELO
PROF. DR. HEITOR MORENO JUNIOR.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

Sa59e Santos, Rodrigo Cardoso, 1980-
Efeitos da inibição da fosfodiesterase-5 sobre a
disfunção diastólica do ventrículo esquerdo em pacientes
com hipertensão arterial resistente / Rodrigo Cardoso
Santos. -- Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador : Heitor Moreno Junior.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipertensão. 2. Insuficiência cardíaca diastólica.
3. Inibidor de fosfodiesterase 5. I. Moreno Junior, Heitor,
1958-. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Phosphodiesterase 5 inhibition improves left ventricle diastolic dysfunction in resistant hypertensive patients.

Palavras-chave em inglês:

Hypertension

Diastolic heart failure

Phosphodiesterase 5 inhibitors

Área de concentração: Farmacologia

Titulação: Doutor em Farmacologia

Banca examinadora:

Heitor Moreno Junior [Orientador]

Luiz Antonio Kannebley Bittencourt

Wilson Nadruz Junior

Marcus Vinicius Simões

Beatriz Bojikian Matsubara

Data da defesa: 22-02-2013

Programa de Pós-Graduação: Farmacologia

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

RODRIGO CARDOSO SANTOS

ORIENTADOR: PROF. DR. HEITOR MORENO JUNIOR

MEMBROS:

1. PROF. DR. HEITOR MORENO JUNIOR

2. PROF. DR. LUIZ ANTONIO KANNEBLEY BITTENCOURT

3. PROF. DR. WILSON NADRUZ JUNIOR

4. PROF. DR. MARCUS VINICIUS SOMÕES

5. PROFA. DRA. BEATRIZ BOJIKIAN MATSUBARA

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 22 de fevereiro de 2013

AGRADECIMENTOS

*Ao meu orientador, **Prof. Dr. Heitor Moreno Jr**, pela oportunidade, incentivo e ensinamentos não só neste processo, mas para toda a vida.*

*Aos meus pais, **Sílvio e Suely**, pelos incentivos, ensinamentos e exemplos a serem seguidos, tanto na vida quanto na medicina. Agradeço também pelo apoio, amor e amparo desde o início até este momento.*

*À minha esposa, **Mariana**, pelo amor e apoio nos momentos mais difíceis e pelo companheirismo e compreensão, sem os quais esta jornada não teria sucesso.*

*À toda minha família, em especial minha irmã, **Clarissa**, e aos meus falecidos avós, **José e Idalina**, pelo suporte desde o início de minha formação até este momento.*

*Aos meus amigos e companheiros de pesquisa do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, **Dra. Valéria Nasser Figueiredo, Thiago Quinaglia Araujo Costa Silva, Ana Paula Cabral de Faria, Carolina de Haro Moraes, Vanessa Fontana, Rodrigo Gimenez Pissuti Modolo, Prof. Dr. Luiz Cláudio Martins, Ademir Gazzoto, Andréa Sabatini, Natália Barbaro, Adilson Tomaz e Daniel José de Souza**, cuja importância na realização desta tese não pode ser descrita.*

*Aos meus professores e mestres principalmente da disciplina de cardiologia da Unicamp, em especial **Prof. Dr. Otávio Rizzi Coelho**, por terem me ensinado não só uma paixão, mas também me acolhido como colega.*

A todos os meus demais amigos, ou irmãos, que foram um apoio imprescindível a este momento

Aos pacientes e voluntários que participaram deste projeto, meu muito obrigado.

*À **FAPESP** e **CNPq** pelo auxílio e apoio científico.*

“O sucesso é ir de fracasso em fracasso sem perder entusiasmo”.

Winston Churchill

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XI
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	XIII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XVI
1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Considerações Gerais.....	19
1.2 Hipertensão Arterial Resistente.....	20
1.1.2 Definição.....	21
1.2.2 Pseudoresistência.....	22
1.2.3 Incidência e Prevalência.....	23
1.2.4 Fatores Associados e Fisiopatologia.....	24
1.2.5 Lesões de órgãos-alvo.....	26
1.2.6 Diagnóstico.....	27
1.2.7 Hipertensão Secundária.....	28
1.2.8 Prognóstico.....	30
1.2.9 Tratamento.....	31
1.2.9.1 Não Farmacológico.....	31
1.2.9.2 Farmacológico.....	32
1.2.9.3 Outros Tratamentos.....	33
1.3 Disfunção Diastólica do Ventrículo Esquerdo.....	35
1.3.1 Fisiopatologia.....	35
1.3.2 Epidemiologia.....	39

1.3.3 Diagnóstico.....	40
1.3.3.1 Ecocardiograma.....	40
1.3.3.2 Peptídeo Natriurético Cerebral.....	44
1.3.4 Tratamento.....	45
1.4 Inibidores de Fosfodiesterase 5.....	46
1.4.1 Farmacocinética.....	48
1.4.2 Mecanismo de ação.....	48
1.4.3 Outras indicações.....	50
2. OBJETIVOS.....	52
3. CONCLUSÕES.....	54
CAPÍTULO I.....	56
CAPÍTULO II.....	85
REFERÊNCIAS.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACCOMPLISH	<i>Avoiding Cardiovascular Events in Patients Living with Systolic Hypertension</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
ALLHAT	<i>Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial</i>
AMPA	Automedida da Pressão Arterial
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina
AOS	Apnéia Obstrutiva do Sono
ASCOT	<i>Anglo-Scandinavian Cardiac Outcome Trial</i>
BNP	Peptídeo Natriurético Cerebral
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
DDVE	Disfunção diastólica do ventrículo esquerdo
GMPc	Monofosfato Cíclico de Guanosina
HAR	Hipertensão Arterial Resistente
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HVE	Hipertrofia Ventricular Esquerda
IC	Insuficiência Cardíaca
IMC	Índice de Massa Corporal
MAPA	Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial
MRPA	Monitorização Residencial da Pressão Arterial
NO	Óxido Nítrico
PA	Pressão Arterial

PAD	Prssão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PDE	Fosfodiesterase
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
TDE	Tempo de Desaceleração da Onda A
TRIV	Tempo de Relaxamento Isovolumétrico

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Padrões de Análises de Fluxos e Movimentação de Anel Mitral ao Ecocardiograma.....	43
Figura 2	Vasodilatação Muscular Lisa e Efeito dos Inibidores de PDE5.....	49

RESUMO

Introdução: A disfunção diastólica do ventrículo esquerdo (DDVE) e a hipertrofia ventricular são considerados marcadores frequentes para lesão cardíaca e fatores de risco de progressão para insuficiência cardíaca congestiva (ICC), especialmente em pacientes com hipertensão arterial resistente (HAR). A redução dos níveis pressóricos arteriais pode melhorar a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo e os sintomas de insuficiência cardíaca. Entretanto, frequentemente esta redução não é atingida nos pacientes com HAR. Inibidores da fosfodiesterase 5 (PDE5) apresentam efeitos vasodilatadores discretos e, recentemente, se demonstrou que a administração de sildenafil a ratos hipertensos melhorou a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, através de ação direta sobre os miócitos cardíacos, evidenciando a presença de PDE5 neste tecido. **Objetivo:** Avaliar se o uso de um inibidor de PDE5 de longa duração (tadalafil) melhora a DDVE em pacientes com HAR de maneira independente de outros mecanismos secundários. **Casística e Métodos:** Realizou-se um estudo intervencionista, cego, controlado por placebo, cruzado de uma via, incluindo 19 pacientes com HAR e DDVE. Inicialmente, receberam por via oral uma dose diária de placebo por 14 dias, com realização de medidas da pressão arterial de consultório e MAPA, avaliação da função endotelial (técnica de FMD), ecocardiograma e medidas de concentrações sanguíneas de BNP-32, GMPc e nitrito, antes e após o período de administração. Posteriormente, repetimos o mesmo procedimento, mas substituindo o placebo por tadalafil 20mg por dia. Ao final, as variáveis obtidas foram comparadas antes e após os usos de tadalafil e placebo, utilizando-se o método t de *student* pareado, com $\alpha < 0,05$. **Resultados:** os pacientes apresentaram melhora da DDVE, demonstrada pela velocidade da onda E de $67,8 \pm 18,3$ cm/s para $77,8 \pm 16,0$ cm/s ($p = 0,025$); relação E/A de $0,9 \pm 0,3$ para

1,08±0,3 (p=0,01); tempo de desaceleração da onda E de 234,1±46,0ms para 194,4±43,3ms (p<0,01); tempo de relaxamento isovolumétrico de 128,7±17,6ms para 96,8±26,9ms (p<0,01); velocidade de onda E' lateral de 7,7±2,1cm/s para 8,8±2,8cm/s (p=0,025); velocidade de onda S' septal de 6,3±1,4cm/s para 7,7±1,7cm/s (p<0,01) e velocidade de onda S' lateral de 7,5±2,3cm/s para 8,3±2,2cm/s (p=0,014) (todas as variáveis expressas como em média e desvio-padrão). Houve, também, redução nos níveis de BNP-32 de 143±33,3 para 119,3±31,3 pg/mL e aumento no GMPc de 62,4±32,2 para 112,6±75,3pmol/mL. A concentração de nitrito foi semelhante com o uso de placebo e tadalafil. Em relação às medidas de pressão arterial, independentemente do método, também apresentam valores semelhantes antes e após o uso do fármaco, assim como a função endotelial. Os pacientes sob ação do placebo, não mostraram alterações em nenhuma das variáveis avaliadas.

Conclusões: Os resultados sugerem que o uso de tadalafil melhora o relaxamento do ventrículo esquerdo em pacientes com HAR, independente da pressão arterial e da função endotelial, podendo constituir um importante tratamento adjunto em pacientes hipertensos sintomáticos com DDVE.

Palavras Chave: Hipertensão, Insuficiência Cardíaca Diastólica, Inibidor de Fosfodiesterase- 5

ABSTRACT

Introduction: Left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction (LVDD) remain frequent markers of cardiac damage and risk of progression to symptomatic heart failure (HF), especially in resistant hypertension (RHTN). Lowering BP may improve diastolic function and relieve HF symptoms; however, very often this target is not achieved in RHTN subjects. PDE-5 inhibitors have mild systemic vasodilatory effects, and recently, we demonstrated that administration of sildenafil in hypertensive rats improves LVDD, acting in cardiac myocytes with PDE5 expression in this tissue. **Objective:** To analyze if a long-acting PDE-5 inhibitor (tadalafil) may be clinically useful for improving LVDD in RHTN patients. **Methods:** We developed a single- blinded, placebo-controlled, one-way crossover, interventional study that enrolled 19 patients with RHTN and LVDD. At first, subjects were given a placebo daily oral dosage, for 2 weeks and they were submitted to blood pressure measurements (both ABPM and office), endothelial function (FMD) assessment, echocardiographic study and plasmatic BNP-32, cGMP and nitrite levels, before and after this 2-week period. Next, subjects were submitted to the same protocol receiving tadalafil (20 mg) orally instead of placebo. Variables were compared before and after placebo and tadalafil administration, using the paired student's t-test. The level of significance (α) accepted was less than 0.05. **Results:** Patients had an improvement in LVDD represented by changes in E-wave peak velocity from 67.8 ± 18.3 cm/s to 77.8 ± 16.0 cm/s ($p=0.025$), E/A ratio from 0.9 ± 0.3 to 1.08 ± 0.3 ($p=0.01$), E wave deceleration time from 234.1 ± 46.0 ms to 194.4 ± 43.3 ms ($p<0.001$), isovolumic relaxation time from 128.7 ± 17.6 ms to 96.8 ± 26.9 ms ($p<0.001$), lateral E' wave velocity from 7.7 ± 2.1 cm/s to 8.8 ± 2.8 cm/s ($p=0.025$), septal S' wave velocity from 6.3 ± 1.4 cm/s to 7.7 ± 1.7 cm/s ($p<0.01$) and lateral S' wave velocity from

7.5±2.3cm/s to 8.3±2.2cm/s (p=0.014) (Values are expressed as mean ± standard deviation).

We also noticed a decrease in BNP-32 levels from 143±33.3 to 119.3±31.3 pg/mL and an increase in cGMP levels from 62.4±32.2 to 112.6±75.3pmol/mL. No significant differences were detected in office and ABPM measurements, in endothelial function and nitrite levels.

Conclusion: The current findings suggest that tadalafil enhances LV relaxation in resistant hypertensive patients and, despite its mild antihypertensive effect, may serve as an important adjunct to treat symptomatic hypertensive patients with evident LVDD.

Keywords: Hypertension, Diastolic Heart Failure, Phosphodiesterase 5 inhibitors.

1.INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Define-se hipertensão arterial sistêmica (HAS), quando os níveis pressóricos arteriais estejam maiores ou iguais a 140/90mmHg. É considerada um dos principais fatores de risco modificáveis para doenças cardiovasculares, apresentando alta prevalência e baixas taxas de controle, tornando-a um dos principais problemas de saúde pública [1, 2]. A morbimortalidade relacionada a esta doença aumenta progressivamente com a elevação da pressão arterial sistêmica acima de 115/75mmHg, de forma linear e contínua [3].

Por vezes a HAS apresenta má resposta ao tratamento medicamentoso, tornando-se de difícil controle clínico, mantendo ainda sua etiologia de caráter primário, sendo classificada como hipertensão arterial resistente (HAR). Pacientes portadores de HAR apresentam diversas manifestações clínicas associadas, muitas vezes causadas pelo próprio aumento dos níveis pressóricos. Entre elas, destaca-se a insuficiência cardíaca com fração de ejeção normal. Esta condição, também conhecida como disfunção diastólica do ventrículo esquerdo é considerada fator independente de risco cardiovascular [4] e, até o momento, não há descrição de qualquer tratamento efetivo que interfira diretamente esta disfunção.

A função endotelial, responsável pela vasodilatação arterial por meio da produção e liberação de óxido nítrico, se encontra alterada em pacientes com HAR, contribuindo para seus níveis pressóricos elevados [5]. Ambos, o aumento da PA e o déficit de dilatação das artérias apresentam relação íntima com a função diastólica do ventrículo esquerdo, e a melhora do relaxamento nas artérias reduz a pressão de enchimento diastólico do ventrículo esquerdo.

A fosfodiesterase-5 é uma enzima presente em diversos tecidos, cuja ação leva à redução dos níveis de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) provenientes da ação local do óxido nítrico e, por conseguinte, à redução da vasodilatação arterial. Relatos recentes evidenciam expressão de PDE5 em baixos níveis nos miócitos de indivíduos sadios [6]. No entanto, em humanos, níveis expressivos desta enzima só foram descritos em estados patológicos, incluindo a insuficiência cardíaca congestiva [6, 7]. Descreveu-se também, a presença desta enzima em miócitos de ratos hipertensos, nos quais o uso de um inibidor de PDE5 diminuiu o déficit de relaxamento do ventrículo esquerdo [8]. Em humanos, o uso deste tipo de droga se mostrou igualmente eficaz, diminuindo a disfunção endotelial de pacientes com HAR [9].

Diante de tais informações, o estudo que se segue como capítulo desta tese de doutorado (modelo alternativo) avalia se o tratamento com inibidores de PDE5 melhora a DDVE em pacientes hipertensos resistentes e, se esses benefícios, são independentes da melhora da função endotelial e redução dos níveis pressóricos arteriais.

1.2 Hipertensão Arterial Resistente

No Brasil, a HAS apresenta prevalências entre 22,3% e 43,9% [10, 11]. Embora existam diversos medicamentos antihipertensivos disponíveis, estudos revelam apenas 19,6% de controle adequado da PA nos pacientes hipertensos [11, 12]. A falta de cumprimento das metas terapêuticas deve-se, em parte, à má aderência ao tratamento antihipertensivo [13], seja ele composto somente por mudanças no estilo de vida, principalmente com a redução de ingesta de sal e álcool, perda de peso e realização de

atividade física regular ou acrescido à terapêutica medicamentosa, a tratamento prescrito inadequado, a medidas incorretas de PA e a outras causas de pseudo-hipertensão resistente. Entretanto, existe um grupo de pacientes, em que, apesar da adequada realização das orientações e do uso de medicamentos, os níveis pressóricos mantêm-se elevados, sendo chamados de hipertensos resistentes.

1.2.1 Definição

Segundo a *American Heart Association* e a *European Society of Cardiology*, HAR é definida quando a PA é mantida em níveis acima das metas recomendadas com o uso de, no mínimo, três fármacos antihipertensivos com ações sinérgicas em doses máximas ou toleradas, sendo um deles necessariamente um diurético [14, 15]. Entretanto, a AHA incluiu pacientes em uso de quatro ou mais fármacos antihipertensivos, nas mesmas dosagens, com controle adequado de PA também como hipertensos resistentes [14]. Existe, contudo, controvérsia se todos estes pacientes deveriam ser colocados em conjunto, sob nova classificação proposta, na qual deveriam ser separados em dois subgrupos: resistentes e refratários [16-18]. Esta nova classificação ainda está em discussão, não sendo totalmente aceita por todos os pesquisadores [19], existindo, contudo, dados novos consistentes de que estes grupos seriam distintos e deveriam serem separados, segundo esta nova classificação. Um estudo epidemiológico analisou 90 pacientes com diagnóstico de HAR segundo a AHA, divididos em dois grupos, de acordo com os níveis pressóricos: um grupo dos controlados (com, no mínimo 4 fármacos) e um grupo dos não controlados. Este último grupo mostrou níveis pressóricos (tanto PAS quanto PAD), pressão de pulso, índice de massa corporal,

atividade de renina plasmática, concentração de aldosterona plasmática e relação aldosterona/renina, significativamente maiores quando comparados ao grupo dos controlados [20]. Além disso, o grupo dos não controlados apresentou maior espessura íntima-média, velocidade de onda de pulso, hipertrofia ventricular esquerda [20, 21], disfunção endotelial e menor queda noturna dos níveis pressóricos que o grupo dos controlados [5]. É digno de nota que 20% dos pacientes controlados foram retirados do estudo porque usaram fármacos em doses não otimizadas, mantendo-se apenas os verdadeiramente resistentes controlados [20]. Estes dados apontam para diferenças importantes entre os indivíduos controlados e não controlados, o que aumenta, a já elevada morbimortalidade daquele grupo. Resumindo, apesar de ainda não ter sido confirmada, esta nova classificação apresenta fundamentação clínica e deve ser avaliada sempre nas discussões de HAR [16].

1.2.2 Pseudo-resistência

Dentre os indivíduos considerados hipertensos resistentes é de extrema importância para qualquer avaliação diagnóstica definir-se a presença de pseudo-resistência. Esta modalidade de hipertensão é descrita como o aparente não controle pressórico que, na verdade, é devido a medidas inadequadas da PA, escolha terapêutica (tanto de fármacos quanto de dosagens inapropriadas), falta de aderência ao tratamento e efeito do “jaleco branco” [22]. Conforme comprovação prévia, uma intensiva monitorização de aderência ao tratamento, ajuda na identificação dos pacientes hipertensos “verdadeiramente” resistentes [23].

1.2.3 Incidência e Prevalência

A prevalência e incidência da HAR ainda é incerta. Historicamente, estudos iniciais, nas décadas de 70 e 80, de hipertensão arterial, estimam incidências desde 3% até 13% do total de pacientes hipertensos, usando até terapia quádrupla [24-26]. Mais recentemente, demonstrou-se incidência de 1,9% de HAR em pacientes hipertensos em seguimento por 18 meses [27]. Em relação à prevalência, o estudo de Framingham mostrou 52% de pacientes sem controle adequado de PA [28]. Entretanto, estes altos índices foram atingidos devido à má aderência e tratamento inadequado. No estudo ALLHAT, havia diversidade étnica importante nos pacientes incluídos, e o tratamento dos mesmos era mais adequado e controlado, e após 5 anos de seguimento, aproximadamente 50% dos indivíduos necessitavam de 3 ou mais classes de fármacos para o tratamento [29]. Contudo, este valor deve estar superestimado, devido aos regimes terapêuticos restritos permitidos no estudo, além do que as principais associações terapêuticas preconizadas, como diuréticos tiazídicos, inibidores da ECA e bloqueadores de canais de cálcio não serem encorajadas [14]. Avaliações semelhantes também ocorreram nos estudos ASCOT e ACCOMPLISH [30, 31]. A análise dos pacientes do National Health and Nutrition Examination Survey, entre 2003 e 2008, classificou em hipertensos resistentes 12,8% dos indivíduos tratados de HAS [32]. Outros estudos corroboram estes dados, mostrando uma prevalência aceita, hoje, de 10% a 15% [33], demonstrando, inclusive, um aumento na prevalência ao longo das duas últimas décadas, de 5,5% para 8,5% e, então, 11,8% entre 2005 e 2008 [34-36].

1.2.4 Fatores Associados e Fisiopatologia

A HAR tem uma fisiopatologia multifatorial, que evidencia seu pior prognóstico, quando comparada à HAS. Um dos principais fatores associados é a idade avançada, que relaciona-se à dificuldade em atingir um controle pressórico adequado [20]. Dados demográficos do estudo de Framingham mostram que a falência de controle pressórico está associada a valores extremamente elevados da PA, desde a avaliação inicial [28]. Obesidade também é preditor de insucesso no controle da PA, cujo mecanismo é complexo e não totalmente elucidado, mas inclui, entre outros, excreção deficiente de sódio, aumento da atividade simpática e ativação do SRAA [20, 37, 38]. A retenção hídrica é outro fator importante relacionado e ocorre principalmente por níveis elevados de aldosterona plasmática e da relação aldosterona/renina, não causados por hiperaldosteronismo primário [20, 38-40], alta ingestão de sódio [41] e doença renal crônica [14, 20]. Adicionalmente, diabetes *mellitus* também dificulta a redução dos níveis pressóricos sanguíneos [14, 20, 42].

A HVE é outro fenótipo altamente associado à HAR. Sua presença está relacionada a aumento plasmático de mediadores inflamatórios como proteína C reativa e microalbuminúria [43]. Além disso, a ingestão de outros fármacos, drogas ilícitas, álcool e outras substância exógenas também contribuem para a resistência [14, 44] (Tabela 1).

Tabela 1: Fatores contribuintes para hipertensão arterial resistente

Fatores contribuintes
Expansão volêmica
Ingestão excessiva de sódio
Retenção hídrica causada por doença renal crônica
Terapia diurética inadequada
Obesidade/resistência insulínica
Substâncias exógenas
Anti-inflamatórios não-esteroidais
Contraceptivos orais
Álcool
Corticosteróides
Esteróides anabólicos
Agentes simpatomiméticos
Cafeína
Ciclosporina
Eritropoetina
Agentes quimioterápicos
Antidepressivos

Adaptado do Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure [2].

Todos estes fatores contribuintes para a resistência da hipertensão arterial sistêmica mostram que a fisiopatologia desta entidade clínica não pode ser avaliada apenas de um ângulo, mas através de um conjunto de alterações que contribuem para uma doença mais agressiva e deletéria.

1.2.5 Lesões de órgãos-alvo

As lesões de órgãos-alvo apresentam alta correlação com a HAR e são divididas em vasculares e cerebrais, cardíacas e renais. As alterações vasculares já podem estar presentes nos estágios iniciais da doença, associando-se a maior grau de disfunção endotelial, avaliada por diminuição da vasodilatação dependente do endotélio e aumento de biomarcadores séricos inflamatórios. Isto leva a aumento da rigidez vascular, que pode ser avaliada pela velocidade de onda de pulso [20, 21, 45]. O cérebro também pode estar acometido precocemente e é o órgão que mais se beneficia de redução dos níveis pressóricos. Estenoses de carótidas, aterosclerose intracranial e do arco aórtico e lesões cardíacas estão entre os responsáveis por fenômenos tromboembólicos cerebrais isquêmicos. A hipertensão não controlada pode, com o passar do tempo, levar a formação de pequenos aneurismas cerebrais que, ao se romperem, causam hemorragias cerebrais ou subaracnóideas [46].

A HVE é a principal alteração cardíaca e, apesar de relatos de prevalência de 16% nos pacientes hipertensos resistentes [42], no Brasil encontramos 83,3%, quando o diagnóstico é feito pelo ecocardiograma [38]. Nestes pacientes, a presença de alterações eletrocardiográficas com padrão de *strain* (inversão de onda T e depressão do segmento ST nas derivações V₅ e V₆) correlacionam-se a pior prognóstico [47, 48]. Estas alterações constituem-se como fator de risco independente cardiovascular, aumentando em até 1,5 vezes a mortalidade [49, 50]. A HVE aumenta a circulação de mediadores inflamatórios e aldosterona e reduz a reserva coronariana, levando a aterosclerose mais acentuada, rigidez arterial, insuficiência cardíaca, arritmias e disfunção endotelial [20, 21, 38, 43]. Quando analisamos alterações funcionais induzidas pela HVE, a DDVE é a mais comum das

morbidades, acarretando um risco aumentado de progressão para a insuficiência cardíaca [51]. Seu diagnóstico é baseado em alterações eletrocardiográficas e evidências no ecocardiograma de aumento de massa ventricular indexada para a superfície corpórea [52].

As alterações renais também ocorrem precocemente e são comuns, levando a um quadro de nefroesclerose caracterizada por arterioloesclerose e arterioesclerose, hialinose e lesões túbulo-intersticiais e glomeruloesclerose segmentar e focal. Nas formas de hipertensão mais malignas, a hiperplasia miointimal e necrose fibrinóide arteriolar glomerular são descritas como lesões principais.

1.2.6 Diagnóstico

Segundo o 1º Posicionamento Brasileiro sobre a HAR, o diagnóstico inicialmente baseia-se no afastamento da pseudoresistência como causa. Isto deve ser feito comprovando-se a aderência tanto da terapia farmacológica quanto não farmacológica e uso de fármacos na posologia adequada, ou seja, a máxima permitida ou tolerada [14]. Em seguida, excluindo-se o efeito do “jaleco branco”, comprovando-se elevados níveis pressóricos não só no consultório médico, mas também durante o restante do dia e/ou da noite, realizando MAPA, MRPA ou AMPA [53]. Após a comprovação da HAR, deve-se pesquisar causas secundárias, cujas principais então listadas na tabela 2.

Tabela 2: Principais causas de hipertensão secundária.

Frequentes:

Apnéia Obstrutiva do Sono

Doença Renal Parenquimatosa

Estenose de Artéria Renal

Hiperaldosteronismo Primário

Raras:

Feocromocitoma

Doença de Cushing

Hiperparatireoidismo

Coarctação de Aorta

Tumor Intracraniano

Adaptado de Calhoun et al [14]

1.2.7 Hipertensão Secundária

A apnéia obstrutiva do sono é caracterizada pela obstrução parcial ou total das vias aéreas superiores durante o sono [22]. É causa frequente de hipertensão secundária associada HAR [54-56]. Em estudo clínico com 125 pacientes avaliados quanto a motivos conhecidos de resistência, 64% apresentavam AOS [56]. O diagnóstico da AOS deve ser realizado através de polissonografia.

A doença renal parenquimatosa é consequência de inadequado controle pressórico ao longo dos anos e de doenças primárias renais. Esta patologia está associada a retenção hídrica, ativação excessiva do SRAA e uso de antiinflamatórios não esteroidais. Todos os pacientes com HAR devem ser avaliados quanto à função renal [44].

Estenose de artéria renal é uma patologia renovascular de etiologia predominantemente aterosclerótica (90%), cuja prevalência aumenta com a idade [44]. O diagnóstico sempre deve ser pesquisado através de exames de imagem, como ultrassom de artérias renais, cintilografia ou tomografia computadorizada.

O hiperaldosteronismo primário ou síndrome de Conn foi primeiro descrito pelo autor em 1955 [57]. Na ocasião, uma paciente do sexo feminino apresentava-se com hipertensão resistente, hipocalemia e alcalose metabólica, devido à presença de um adenoma produtor de aldosterona. Atualmente, esta síndrome inclui o aumento dos níveis de aldosterona, sem necessariamente apresentar adenomas, mas hiperplasia adrenal bilateral [22, 58]. Estudos mostraram que, além da incidência em torno de 8% a 13% de hiperaldosteronismo em pacientes hipertensos [59, 60]. Quando avaliamos a prevalência entre os hipertensos resistentes esta relação se torna maior, com valores de 17% a 23% [61-64]. Acredita-se que esta doença aumente o risco cardiovascular através da elevação dos mediadores inflamatórios, com o consequente aumento das lesões cardíacas e vasculares [65, 66], exemplificadas por HVE [67], doença renal crônica [68], disfunção endotelial [69] e aumento da espessura íntima-média carotídea [70]. O diagnóstico não inclui mais a hipocalemia. A razão da concentração de aldosterona/atividade plasmática de renina ≥ 20 sugerem o diagnóstico, que deve ser confirmado pelo aumento na excreção urinária de aldosterona em 24 horas. Outra maneira é confirmando-se a falta de supressão da secreção de aldosterona

através de expansão volêmica (infusão de soro fisiológico ou dieta rica em sal) ou bloqueio do SRAA com inibidores da ECA [71]. Com as positivities, faz-se necessário a realização de uma ressonância nuclear magnética de cortes finos para a pesquisa de tumores adrenais [44].

1.2.8 Prognóstico

O prognóstico dos pacientes com HAR não foi devidamente avaliado até o momento, quando comparados aos indivíduos com HAS com controle adequado. Presumivelmente ele é menos favorável, levando-se em conta que a elevação dos níveis pressóricos aumenta o risco de complicações cardiovasculares de maneira linear [1]. Estes indivíduos também apresentam diversos fatores de risco cardiovasculares associados, como idade avançada, obesidade, diabetes e doença renal crônica [72], além de lesões de órgãos-alvo, como HVE e aumento da espessura íntima-média[73]. Em estudo prévio, demonstrou-se risco relativo de 1,47 de morte, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral nos hipertensos resistentes [27]. O grau de redução desses riscos com o tratamento da HAR também é desconhecido [14].

1.2.9 Tratamento

1.2.9.1 Não Farmacológico

O tratamento da HAR ao contrário da HAS requer sempre o uso de fármacos antihipertensivos, conforme sua própria definição. Contudo é de suma importância o tratamento não farmacológico [14].

Pacientes com HAR devem ser tratados com a redução de sal na dieta, perda de peso, prática de exercícios físicos regulares e diminuição no consumo de bebidas alcoólicas [1, 14].

Apesar da dieta hipossódica reduzir os níveis pressóricos moderadamente, os pacientes com HAR são particularmente sal-sensíveis. Em estudo prévio, um consumo diário de até 2,5g de sal por dia reduziu em 23,0/9,0 mmHg a PA [41], mostrando a importância da redução da ingestão de sal, mesmo sendo uma meta de difícil alcance. A Organização Mundial da Saúde recomenda um consumo diário de 1,2g de sal por dia [1].

O consumo de álcool está intimamente ligado à elevação da PA. Homens que consomem mais de 4 doses de álcool por dia têm 50% mais chance de apresentar valores pressóricos fora das metas [28]. A abstinência de álcool em grandes bebedores reduziram os níveis de PAS e PAD em 7,2 e 6,6 mmHg, respectivamente, além da prevalência de hipertensão entre os participantes ter sido reduzida de 42% para 12% [74]. O consumo alcoólico deve ser ≤ 20 g de etanol por dia ou abstinência total, se possível [1].

A redução de peso diminui a PA de forma significativa, devido à diminuição da retenção hídrica, da AOS e à redução da estimulação do sistema nervoso simpático [14, 56, 75]. Pacientes com IMC ≥ 30 apresentam chance 50% maior de apresentar PA não controlada

em comparação a pessoas com IMC normal [20, 28]. Com isso, a perda de peso deve sempre ser buscada entre os indivíduos com HAR [33].

Existe um benefício claro na redução da pressão arterial com a atividade física [14, 76]. A prática de exercícios físicos regulares, tanto os de resistência quanto os aeróbicos, reduzem os níveis pressóricos e melhoram o perfil metabólico [76]. Assim, estes pacientes devem ser tratados com atividade física leve a moderada [1].

1.2.9.2 Farmacológico

A terapêutica na HAR não apresenta estratégia definida. Preconiza-se atingir a meta de PA de consultório ou MRPA de 130/80mmHg ou 125/75mmHg na MAPA [77].

O esquema antihipertensivo deve ser direcionado para o bloqueio do maior número de mecanismos possíveis envolvidos na HAS. Logo, o bloqueio do SRAA por um inibidor da ECA ou antagonista do receptor de angiotensina II, associado a um antagonista dos canais de cálcio dihidropiridínico e um diurético tiazídico, é considerada a melhor combinação tripla, mais eficaz, sinérgica e tolerada [78].

Em relação ao uso de um quarto fármaco, não há consenso sobre sua escolha, tendo em vista que faltam estudos comparativos entre as classes demonstrando superioridade em potência antihipertensiva e proteção cardiovascular [33]. Segundo o estudo ASCOT, a adição de espironolactona, um bloqueador de receptores mineralocorticóides, ao esquema tríplice tradicional, os níveis pressóricos apresentaram quedas de 21,9 mmHg de PAS e 9,5 mmHg da PAD após 1,3 anos de tratamento [79]. Outro estudo realizado em 2009, com pacientes hipertensos resistentes controlados e não controlados também mostrou resultados

semelhantes [38]. Esta redução é independente da presença de hiperaldosteronismo primário e não relacionada aos níveis plasmáticos ou urinários basais iniciais de aldosterona, atividade plasmática de renina ou relação aldosterona/renina [80, 81].

A escolha de fármacos que serão adicionados ao esquema quádruplo deve ser individualizada[1] de acordo com a experiência de cada médico e de outras comorbidades presentes. Inibidores adrenérgicos, incluindo beta e alfa-bloqueadores e inibidores de ação central, vasodilatadores e inibidores de renina, também são muito importantes como opções terapêuticas aos pacientes com HAR [33]. Entretanto, seu uso está mais condicionado a situações especiais, como a necessidade de redução da frequência cardíaca através de betabloqueadores. Além disso, estas outras classes apresentam maior incidência de efeitos adversos [1, 14].

Recentemente, uma nova classe de fármaco foi testada no tratamento antihipertensivo: os inibidores de fosfodiesterase-5 [82, 83]. No entanto, apesar de algum grau de sucesso ter sido demonstrado, estudos maiores ainda são necessários para conclusões mais representativas.

1.2.9.3 Outros Tratamentos

Existem ainda, novas modalidades terapêuticas que estão em desenvolvimento para o tratamento farmacológico no controle pressórico dos pacientes resistentes.

A estimulação dos barorreceptores presentes no seio carotídeo estimula o sistema nervoso parassimpático, propiciando, além de bradicardia, aumento na excreção renal de NaCl e água. A hipervolemia é um dos principais mecanismos envolvidos na resistência da

hipertensão destes pacientes, tornando o aumento da diurese um alvo terapêutico importante a ser atingido. As tentativas de reduzir a hiperatividade do sistema nervoso simpático com a consequente queda dos níveis pressóricos arteriais, remontam ao início do século 20 [84]. A estimulação tanto aguda quanto crônica do seio carotídeo para a redução da hipertensão arterial começou a mostrar resultados positivos nos anos 1960. No entanto, na ocasião, os aparelhos responsáveis pela estimulação eram grandes e com baterias de pouca duração [85]. Nos dias de hoje, esta terapia está novamente em desenvolvimento, com técnicas novas de implantação, que reduzem seus efeitos colaterais e utilizando aparelhos mais modernos, menores e de duração maior. Estudos recentes têm demonstrado benefício da estimulação crônica como adjuvante ao tratamento da HAR, inclusive com redução do número de fármacos administrados diariamente [86, 87].

Outro tratamento que vem ganhando destaque é a denervação simpática renal. Os nervos simpáticos renais contribuem para o surgimento e manutenção da HAS, por meio de liberação de renina, retenção de sódio e aumento da volemia [88]. Entre os anos 1920 e 1930, a simpatectomia radical eram tratamentos utilizados para reduzir a PA em hipertensos graves. Contudo, este procedimento apresentava altos índices de complicações [89]. Recentemente, novas técnicas intervencionistas com bloqueio da ação simpática aferente e eferente por radiofrequência têm mostrado redução significativa na HAS, sem maiores complicações descritas [90]. No entanto, ainda faltam estudos que mostrem reprodutibilidade dos resultados [33].

1.3 Disfunção Diastólica do Ventrículo Esquerdo

A insuficiência cardíaca é uma síndrome complexa, caracterizada, principalmente por dispnéia e intolerância aos esforços, com retenção hídrica e fenômenos congestivos, apresentando altas taxas de morbimortalidade. Apesar da redução da ejeção sistólica poder ser o grande componente desta síndrome, os sintomas desencadeados pelo exercício são principalmente devidos ao aumento da pressão atrial esquerda, devido a alterações na diástole cardíaca. Isto correspondendo à chamada insuficiência cardíaca diastólica [91].

A avaliação da performance cardíaca foi primeiramente, fundamentada na capacidade de ejeção sistólica de sangue. Nos anos 1920, descreveu-se a primeira associação entre relaxamento miocárdico e função ventricular, mostrando que sua importância era tão grande quanto a contração cardíaca [92]. Com o passar dos anos, a diástole foi ganhando mais importância no estudo da função cardíaca até que, em 2004, descreveu-se que a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo poderia ocorrer independente da função sistólica [91]. Logo, a capacidade diastólica de enchimento ventricular vem aumentando seu destaque como componente da função cardíaca global, sendo muito influenciada pela estrutura e composição dos ventrículos, exercendo influência na pré e pós-carga, conforme descrito por Gash *et al* [52, 93, 94].

1.3.1 Fisiopatologia

Conceitualmente, a DDVE refere-se a uma condição na qual anormalidades na função mecânica estão presentes durante o período diastólico, causando relaxamento prolongado,

lento ou incompleto [94]. Nesta situação, ocorre aumento na pressão de enchimento ventricular, levando a uma função diastólica deficiente [52], o que eleva as pressões atrial esquerda e capilar pulmonar. A DDVE pode ser causada por diversos mecanismos, divididos em miocárdicos ou extramiocárdicos (tabela 3), todos contribuindo para a rigidez passiva e redução do relaxamento[52]. Os fatores miocárdicos são divididos em estruturas e processos presentes no interior da célula muscular cardíaca, na matrix extraealular e na produção autócrina e parácrina de neurohormônios [93].

Modificações nos canais dos sarcolema reponsáveis por extrusão de cálcio do citosol, como a bomba de cálcio, redução da reabsorção sarcoplasmática de cálcio por deficiência na CA^{2+} ATPase e mudanças no estado de fosforilação de proteínas que modificam a função desta enzima podem levar a aumento na concentração citosólica diastólica de cálcio e redução no seu declínio. Estas alterações causam anormalidades no relaxamento e na elasticidade cardíacos [93].

O miofilamento contrátil é complexo pelo actina/miosina e sua relação com as tropomiosinas e troponinas T, C e I. Durante o relaxamento, para que ocorra o processo de desligamento do complexo, deve haver desligamento de cálcio, que será sequestrado para o retículo sarcoplasmático. Este processo necessita de energia, advinda da hidrólise de ATP. Alterações nestes processos, principalmente na redução de aporte energético, levam à DDVE [93].

Estas modificações na homeostase do cálcio e produção e reserva de energia são os principais mecanismos que se modificam com alterações agudas no tecido cardíaco.

O citoesqueleto dos cardiomiócitos é composto de microtúbulos, filamentos intermediários (desmina), microfilamentos (actina) e proteínas. Modificações nestas

proteínas que induzam a redução do relaxamento e da elasticidade do ventrículo esquerdo podem ser mecanismos descritos como causadores de disfunção diastólica [95-98].

A matrix extracelular é composta de proteína fibrilar, como colágeno tipo I, tipo III e elastina, por proteoglicanos e por proteínas de membrana. O principal contribuinte para a função diastólica, acredita-se que seja o colágeno fibrilar, sendo que modificações em seu metabolismo ou em sua estrutura induzem a DDVE [99-101].

A ativação neurohormonal tanto crônica quanto aguda demonstrou alterar a função diastólica do ventrículo esquerdo. O SRAA, por exemplo, induz a formação de colágeno, aumentando a rigidez miocárdica [93]. O coração também possui um sistema endotelial cardíaco, cuja liberação cíclica de NO ocorre principalmente no nível subendocárdico, tendo seu pico durante a fase de relaxamento e enchimento ventricular. Este aumento na concentração de NO, mesmo que de maneira breve, é responsável por modulação batimento-a-batimento do relaxamento cardíaco. Este sistema, tanto estimulado, quanto inibido, também modifica o relaxamento cardíaco [102, 103]

Tabela 3: Mecanismos de insuficiência cardíaca diastólica

Extramiocárdicos

Sobrecarga hemodinâmica

Patologias pericárdicas

Miocárdicos

Fatores intracelulares

Alterações na homeostase do cálcio

Disfunção de miofilamentos

Redução na quantidade de energia disponível (ATP/ADP)

Alterações de citoesqueleto

Fatores de matrix extracelular

Modificações no colágeno fibrilar

Alterações de metaloproteinases e proteoglicanos

Ativação Neurohormonal

Sistema renina-angiotensina-aldosterona

Sistema nervoso simpático

Endotelina

Óxido Nítrico

Adaptado de Zile et al [93].

1.3.2 Epidemiologia

A alteração da função diastólica com fração de ejeção normal pode acarretar sinais e sintomas de IC, principalmente dispnéia, ortopnéia e edema, caracterizando a insuficiência cardíaca diastólica. Esta patologia não é distinguível da IC sistólica apenas na análise clínica necessitando de exames específicos [93, 94, 104]. A prevalência da IC diastólica varia de 24% até 38% [105, 106]. Entretanto, este valor aumenta com a faixa etária dos pacientes, atingindo 50% nos maiores de 70 anos [107-110]. Em relação aos hipertensos resistentes, uma prevalência ainda maior com o envelhecimento, chegando a 95% de DDVE [38].

A taxa anual de mortalidade dos pacientes com DDVE é de 5 a 8%, variando de acordo com as causa da disfunção [4], podendo chegar a 50% em 5 anos. Em relação à morbidade, apresenta valores similares aos da IC sistólica, com taxas de reinternações de 50% em 1 ano [107-110] (tabela 4).

Tabela 4: Efeitos da idade na prevalência e prognóstico na IC diastólica

	Idade		
	<50	50-70	>70
Prevalência	15	33	50
Mortalidade	15	33	50
Morbidade	25	50	50

Adaptado de Zile et al [93].

1.3.3 Diagnóstico

Os sintomas da IC diastólica são semelhantes aos da sistólica. A distinção puramente com dados clínicos é praticamente impossível, sendo necessária a realização de exames complementares.

O padrão-ouro para o diagnóstico da DDVE ainda hoje é através da avaliação invasiva do relaxamento do ventrículo esquerdo, com a medição da pressão intraventricular em relação ao tempo ($-dP/dt$) e da rigidez, utilizando-se da curva de pressão/volume (dP/dV), obtidas com a cateterização cardíaca [111]. Contudo, atualmente, é possível fazer uma análise com semelhante acurácia da função diastólica utilizando métodos não invasivos, como o ecocardiograma e a ressonância nuclear magnética [52, 94, 112].

1.3.3.1 Ecocardiograma

O ecocardiograma é o método diagnóstico mais utilizado na avaliação da DDVE, por ser não invasivo e não necessitar de qualquer tipo de contraste para sua execução. A função diastólica é definida, primariamente, através da análise dos fluxos diastólicos através do orifício da valva mitral e da movimentação sistólica e diastólica do anel mitral em suas porções septal e lateral, utilizando-se o Doppler e o Doppler tecidual [113-115]. Com isso, obtemos, em paciente com ritmo sinusal, as velocidades e duração de fluxos das ondas E (enchimento rápido ventricular), ondas A (fluxo de contração atrial), tempo de desaceleração da onda E e tempo de relaxamento isovolumétrico. Além disso, com a movimentação do anel

mitral obtemos a velocidade de movimentação durante a fase de enchimento rápido (ondas E' septal e lateral) e durante a contração atrial (ondas A' septal e lateral) e de movimentação durante a contração ventricular sistólica (ondas S' septal e lateral). Existem outros parâmetros que podem ser utilizados em casos de dúvidas como a velocidade de propagação do fluxo da valva mitral com o modo-M colorido e a análise do fluxo da veia pulmonar (este último altamente dependente de janelas acústicas adequadas, dificultando sua realização rotineiramente) [115, 116].

A avaliação do fluxo transvalvar mitral mostra, em um paciente com função diastólica do ventrículo esquerdo normal, uma onda E maior que a onda A, com TDE entre 150 e 200ms e TRIV menor que 100ms. O Doppler tecidual mostra ondas E' maiores que ondas A', com velocidades normais (tabela 5).

Tabela 5: Valores normais dos parâmetros de enchimento diastólico do ventrículo esquerdo.

Parâmetros	Adultos >55 anos
Velocidade da onda E (cm/s)	74,1 ± 16,7
Velocidade da onda A (cm/s)	71,8 ± 16,7
E/A mitral	1,1 ± 0,2
Tempo de desaceleração da onda E	184 ± 24
Tempo de relaxamento isovolumétrico	87 ± 7
Velocidade de onda S' septal (cm/s)	7,6 ± 1,2
Velocidade de onda E' septal (cm/s)	10,4 ± 2,1
Velocidade de onda S' lateral (cm/s)	9,9 ± 2,3
Velocidade de onda E' lateral (cm/s)	10,5 ± 1,8
Relação E/E' septal	8,9 ± 2,3
Relação E/E' lateral	6,3 ± 1,8

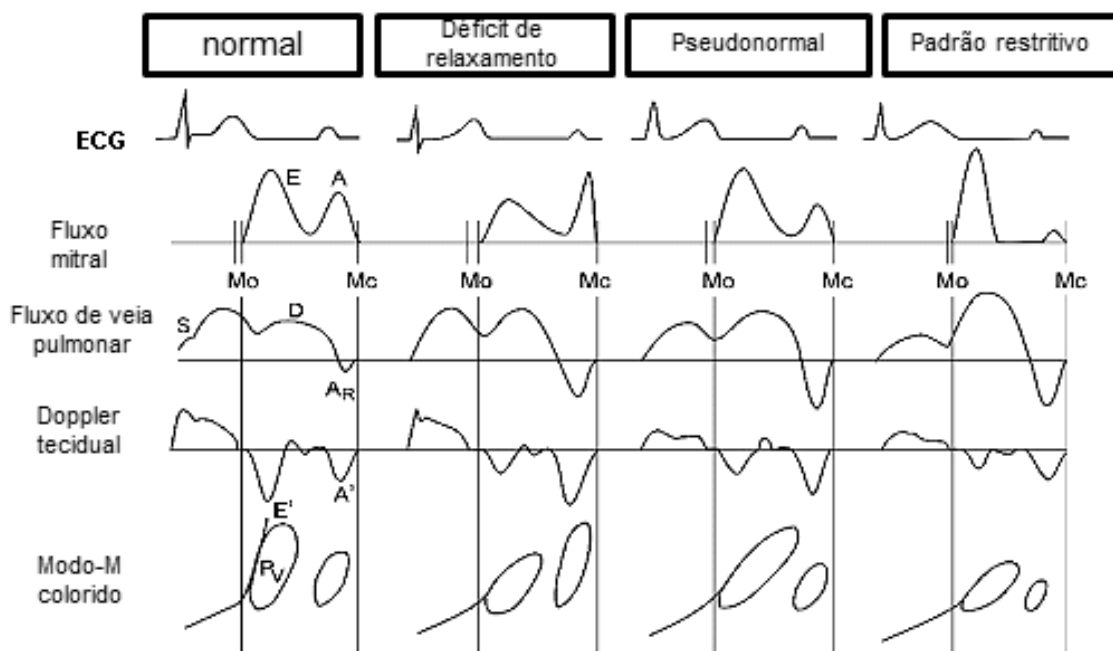
Adaptado de [116-118].

Com o início da instalação da disfunção diastólica, ocorre redução na velocidade do fluxo de sangue durante a fase de enchimento rápido e um aumento na contração atrial, como tentativa compensatória de ejetar o volume de sangue maior que se encontra no átrio esquerdo. Este fenômeno se evidencia ao ecocardiograma, através da redução da onda E e aumento da onda A, com a mesma inversão nos parâmetros teciduais, tanto septais quanto laterais. Esta condição é denominada disfunção diastólica do tipo I ou déficit de relaxamento do ventrículo esquerdo[112-114, 116].

Em uma tentativa de melhorar a diástole, mecanismos compensatórios aumentam a pressão com que o sangue passa do átrio esquerdo para o ventrículo, novamente melhorando o fluxo diastólico inicial, com aumento da onda E e redução da onda A. Entretanto, na análise com Doppler tecidual, podemos ainda constatar uma inversão $E':A'$ associadas a velocidades reduzidas, denominando-se disfunção diastólica do ventrículo esquerdo tipo II ou padrão pseudonormal [112-116].

A DDVE ainda pode evoluir para os chamados tipo III e IV ou padrões restritivos com déficit de complacência. Contudo, estas patologias estão muito associadas a disfunções sistólicas moderadas ou acentuadas ou patologias miocárdicas restritivas como doenças de depósito ou pericárdicas constrictivas [112-116] (Figura 1).

Figura 1: Padrões de análises de fluxos e movimentação de anel mitral ao ecocardiograma.



Entretanto é digno de nota que todas essas avaliações são realizadas com o paciente em repouso, sendo que grande parte das alterações hemodinâmicas e sintomas são relacionados ao esforço. Com isso, o uso do ecocardiograma com esforço físico pode ser uma opção importante, mas ainda é discutida a confiabilidade de seus índices e resultados [91, 116].

1.3.3.2 Peptídeo Natriurético Cerebral

Os biomarcadores constituem-se em mais um auxílio importante na avaliação do diagnóstico e do prognóstico de pacientes com DDVE, além de melhorar a acurácia do diagnóstico diferencial com alterações sistólicas concomitantes. O peptídeo natriurético cerebral, o BNP-32, é um neurohormônio que é fragmento ativo do proBNP, agindo como um antagonista do SRAA, protegendo o corpo humano de sobrecargas de volume, ao promover natriurese, diurese e vasodilatação. Sua liberação ocorre nos ventrículos como resposta à distensão de suas paredes, seja por sobrecarga de volume ou pressão [119]. De acordo com alguns estudos, da mesma maneira que a disfunção sistólica induz ao aumento dos níveis plasmáticos de BNP-32, o mesmo ocorre nos pacientes com DDVE com fração de ejeção normal [120-123]. Descrevem-se níveis de 60-90pg/ml com alta sensibilidade na detecção de DDVE [124]. Além da correlação com a presença de alterações diastólicas do ventrículo esquerdo, o BNP também mostrou-se eficaz na avaliação da gravidade da doença, com níveis mais elevados nos tipo mais graves de disfunção diastólica [125]. Estudos com dosagem de proBNP, um precursor do BNP-32 também se mostrou útil no diagnóstico e

avaliação da DDVE [125, 126]. Outros biomarcadores estão sendo pesquisados em relação a esta patologia.

1.3.4 Tratamento

Apesar do diagnóstico ser relativamente simples, tanto os pacientes sintomáticos quanto os assintomáticos, tendo em vista o aumento da mortalidade em ambos os grupos, apresentam-se em um impasse para o clínico: o tratamento.

Infelizmente, não há tratamento específico para melhorar a DDVE. Diversos estudos tentaram comprovar o uso de medicamentos relacionados ao tratamento da IC sistólica como benéficos para a DDVE com fração de ejeção normal, como nebivolol [127], digoxina [128] e irbesartana [129]. Entretanto, os resultados foram desanimadores.

Segundo o consenso de 2009 de *American College of Cardiology/American Heart Association*, o tratamento dos pacientes com IC diastólica deve basear-se no alívio dos sintomas, principalmente, com o uso de diuréticos para alívio da dispnéia que costumam ser secundária à congestão pulmonar. Além disso, ao se identificar as causas da DDVE, deve-se tratá-las, como se os pacientes tivessem quadros isquêmicos associados [105, 112, 130, 131].

Nos pacientes hipertensos resistentes, cuja etiologia baseia-se na própria sobrecarga pressórica cardíaca e suas consequências ao miocárdio e pelo desenvolvimento de hipertrofia ventricular, a terapêutica deve apoiar-se no tratamento antihipertensivo agressivo. A redução dos níveis pressóricos e da obesidade podem causar a regressão da hipertrofia e melhora da função diastólica [132, 133]. Entretanto, o uso dos fármacos utilizados no tratamento da HAR não mostrou redução objetiva na mortalidade [134-139].

Com base nesses dados, novos fármacos estão sendo estudados, com o objetivo de tornarem-se adjuvantes no tratamento da DDVE de maneira objetiva.

1.4 Inibidores de Fosfodiesterase 5

Os inibidores da PDE5 são uma classe de fármacos originalmente utilizados para o tratamento da disfunção erétil, sendo que o sildenafil e o tadalafil estão entre os mais potentes e populares. Atualmente, estes dois medicamentos constituem cerca de 75% das prescrições nos Estados Unidos da América [140].

Em 1886, Henry Hyde Slater descreveu efeito broncodilatador atribuído à cafeína. Apesar do mecanismo se desconhecido na época, sabe-se que a mesma atuava como inibidor de fosfodiesterase[141]. Seguindo suas descrições, em 1958 o AMPc foi identificado como segundo mensageiro de diversos efeitos celulares [142]. Cinco anos depois, em um trabalho que também identificou, em urina de ratos, o GMPc como outro segundo mensageiro intracelular, as fosfodiesterases foram identificadas como enzimas capazes de inativar o AMPc [143]. A descoberta das isoformas das fosfodiesterases foi feita em 1970, com as então chamadas CaM-PDE, cAMP-PDE e cGMP-PDE [144] e sua padronização em 1995 [145].

As fosfodiesterases são enzimas que catalizam a degradação hidrolítica do GMPc e AMPc, mensageiros intracelulares responsáveis por mediar respostas a vários hormônios e neurotransmissores [145, 146]. Sua família é composta de 11 isoenzimas, cuja distribuição pelo corpo humano é variável, assim como sua estrutura molecular e especificidade em hidrolisar AMPc, GMPc ou ambos [146-148]. A PDE5 foi originalmente identificada em 1978, em plaquetas e células pulmonares de ratos [149], sendo que, estudos subsequentes,

demonstraram sua presença em células musculares lisas de brônquios, plaquetas, túbulos renais e células pulmonares [150-152]. Recentemente, descobriu-se expressão de PDE5 em células cardíacas de ratos e cachorros [6-8, 153]. Em humanos, sua concentração no interior de células cardíacas em níveis expressivos foi encontrada em pacientes com IC cardíaca avançada [154, 155]. Entretanto, estudo recente demonstrou a expressão desta isoenzima em corações saudáveis, porém em níveis menores [156].

A primeira molécula utilizada na inibição da PDE5 foi designada M&B22948 e foi designada como estabilizador de mastócitos para o tratamento de doenças alérgicas e se tornou a primeira inibidora de PDE5 administrada a um ser humano por via oral, sendo utilizada no tratamento de pacientes asmáticos. Contudo, esses fármacos não demonstraram efeitos inibitórios sobre outras células inflamatórias além dos mastócitos, mas induziam ao relaxamento de células musculares lisas vasculares e, foram, então, consideradas quanto ao uso no tratamento de doenças cardiovasculares. Desenvolveram-se linhas de pesquisas subsequentes para diversas aplicações e a empresa Pfizer iniciou testes com uma nova molécula, o sildenafil, para o tratamento de angina pectoris. Durante estudos de fase 1, cujos resultados iniciais para o objetivo primário foram desapontadores, notou-se que um efeito colateral frequentemente relatado era de ereção peniana, e o foco da pesquisa com o sildenafil foi modificado. Após 4 anos e meio de grandes estudos, em 1998 o sildenafil foi aprovado pela *Food and Drug Administration* para o tratamento da disfunção erétil [141]. Com o sucesso do novo medicamento novas moléculas foram descobertas, entre elas o tadalafila (Cialis®, Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN). Anos depois, o uso dos inibidores de PDE5 para o tratamento de hipertensão pulmonar também foi aprovado.

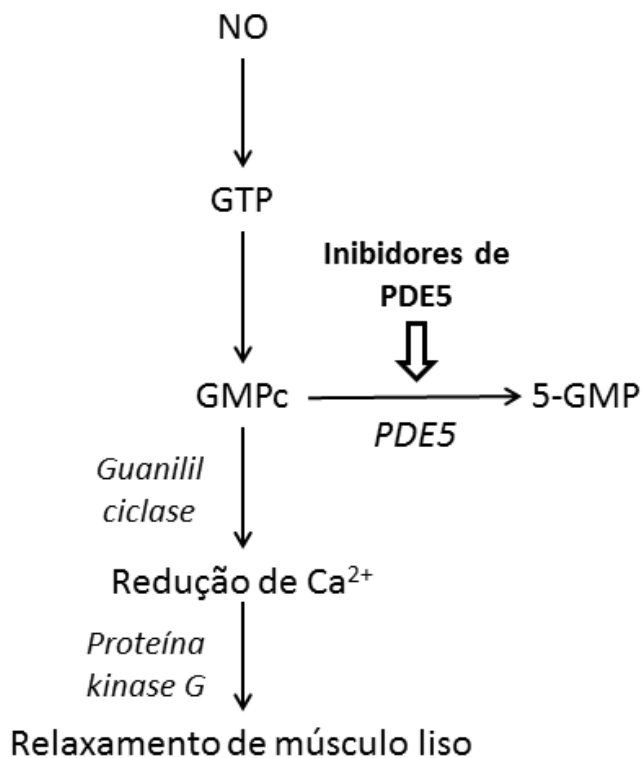
1.4.1 Farmacocinética

Os inibidores de PDE5 são rapidamente absorvidos pela mucosa gastrointestinal e atingem o pico de concentração plasmática em 1 a 2 horas após a ingestão [157, 158], com efeitos surgindo, em média, em 60 minutos e 30 minutos (sildenafil e tadalafil, respectivamente). A meia-vida do tadalafil é a mais longa nesta classe, chegando a 17,5 horas [158, 159]. Estes fármacos são metabolizados no fígado, pelo citocromo p450. Entretanto, o sildenafil ainda apresenta metabólitos ativos com efeito inibidor da PDE5, enquanto o tadalafil, não[158].

1.4.2 Mecanismo de ação

A tensão vascular e o fluxo de sangue são regulados primariamente pela vasodilatação endotélio-dependente através da qual as células endoteliais produzem óxido nítrico, que se difunde para as células musculares lisas adjacentes e aumentam a produção de GMPc, causando relaxamento muscular e, assim, vasodilatação [140]. O NO secretado ativa a enzima conversora de GTP em GMPc, que, por sua vez, irá estimular a proteína quinase G, que iniciará a cascata de fosforilação protética que resultará em redução dos níveis de cálcio intracelular, levado a vasodilatação [158, 160, 161]. Os inibidores de PDE5 são moléculas que se assemelham a base estrutural do GMPc, ocupando o sítio ativo desta enzima, impedindo sua hidrólise em 5-GMPc, potencializando, assim, o efeito vasodilatador da liberação de NO[158, 160] (Figura 2).

Figura 2: Vasodilatação muscular lisa e efeito dos inibidores de PDE5.



Adaptado de Wright [158].

Essa classe de fármacos apresenta baixos índices de efeitos colaterais, que incluem cefaléia, *flushing*, congestão nasal, dispepsia e mialgia. Sua principal contraindicação é o uso concomitante de nitratos, devido a potencial hipotensão induzida pela vasodilatação [162, 163]. Alguns efeitos estão relacionados a inibição de outras isoenzimas. O tadalafil apresenta seletividade pela PDE6 muito menor que o sildenafil, não apresentando distúrbios da percepção de cores, relacionados a inibição desta isoenzima [162]. No entanto, apresenta maior seletividade pela PDE11, mas seus efeitos no organismo ainda não foram elucidados [158].

1.4.3 Outras indicações

Diversos novos usos para os inibidores de PDE5 vêm sendo descritos desde o início de seu uso, com relativo sucesso, em diversas patologias.

Animais submetidos a infartos agudos do miocárdio, apresentaram cardioproteção com a administração desta classe, limitando a área isquêmica e reduzindo a ocorrência de arritmias [164-167]. Cardioproteção também ocorreu em relação a toxicidade da doxorubicina, reduzindo a apoptose induzida por ela e preservando a função ventricular esquerda, tanto com o uso de sildenafil quanto de tadalafil [168, 169]

Em indivíduos com IC, o uso de sildenafil mostrou melhora na oxigenação, no índice cardíaco, reduziu a resistência vascular periférica e aumentou o tempo de exercício e a distância no teste de caminhada e 6 minutos [170, 171].

O remodelamento ventricular também melhorou com redução da hipertrofia ventricular esquerda em ratos com estenose da aorta transversa [172]. A sobrecarga de pressão resultou em aumento dos níveis miocárdicos de PDE5, que estão associados ao desenvolvimento de HVE, através do aumento do estresse oxidativo[155].

A disfunção endotelial também apresentou melhora com o uso de inibidores de PDE5, inclusive em pacientes com HAR [9, 173, 174].

Apesar da descoberta desta classe ser proveniente de pesquisas em tratamentos com dilatação de musculatura vascular lisa e sua utilidade clínica se basear no tratamento de disfunção erétil, o seu uso na HAS ainda não está totalmente elucidado. Muitos estudos nos últimos anos apresentaram resultados que sugerem utilidade para o tratamento da HAS e outras patologias [140, 161]. Alguns demonstraram que o uso desta classe de fármacos no

tratamento tanto da HAS quanto da HAR reduziram os níveis pressóricos dos pacientes [82, 83, 175]. No entanto, o real benefício para estes indivíduos permanece incerto.

Hoje, sua utilização já foi expandida, sendo indicados para o tratamento de pacientes com hipertensão pulmonar [161]

Com base nesses dados, a hipótese de que a utilização dos inibidores de PDE5 possa melhorar a DDVE precisa ser comprovada e, além disso, se o mecanismo é primário ao coração ou secundário a alguma das patologias associadas a essa efermidade. A administração de sindenafil em ratos hipertensos com DDVE evidenciou aumento dos valores de $-dP/dt$, atingindo valores próximos da normalidade [8]. Contudo, o tratamento em humanos ainda necessita de estudos.

2. OBJETIVOS

1- Avaliar se o uso diário, por 2 semanas, de um inibidor de PDE5 de longa meia-vida (tadalafil 20mg/dia) resulta em melhora da disfunção diastólica do ventrículo esquerdo tipo I e II em pacientes hipertensos resistentes.

2- Avaliar se a mudança na disfunção diastólica do ventrículo esquerdo ocorre de maneira independente da melhora na função endotelial ou redução da pressão arterial.

3. CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados obtidos demonstram que o uso crônico, por 2 semanas, de tadalafil na dose de 20mg/dia, por via oral, melhorou a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo em pacientes hipertensos resistentes, avaliada pelo ecocardiograma e pelos níveis plasmáticos de BNP-32. Esta melhora não apresentou correlação positiva com a redução da pressão arterial ou com a modificação na função endotelial.

CAPÍTULO I



Journal of Hypertension
**TADALAFIL-INDUCED IMPROVEMENT IN LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC
DYSFUNCTION IN SUBJECTS WITH RESISTANT HYPERTENSION**
–Manuscript Draft–

Manuscript Number:	
Full Title:	TADALAFIL-INDUCED IMPROVEMENT IN LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION IN SUBJECTS WITH RESISTANT HYPERTENSION
Article Type:	Original Manuscript
Keywords:	Left ventricle diastolic dysfunction; refractory hypertension; PDE5-inhibitors; cGMP; BNP-32.
Corresponding Author:	Heitor Moreno, M.D., Ph.D. Faculty of Medical Sciences - State University of Campinas Campinas, SP BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Faculty of Medical Sciences - State University of Campinas
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Rodrigo Cardoso Santos, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Rodrigo Cardoso Santos, M.D. Ana Cabral de Faria, Pharm.D., M.Sc. Natalia Ruggeri Barbaro, Pharm.D. Silvia Elaine Ferreira-Melo, Pharm.D., Ph.D. José Roberto Matos-Souza, M.D., Ph.D. Otavio Rizzi Coelho, M.D., Ph.D. Vanessa Fontana, Pharm.D., Ph.D. Juan Carlos Yugar-Toledo, M.D., Ph.D. David Calhoun, M.D., Ph.D. Heitor Moreno, M.D., Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction (LVDD) remain highly frequent biomarkers of cardiac damage and risk of progression to symptomatic heart failure (HF), especially in resistant hypertension (RHTN). Lowering BP may improve diastolic function and relieve HF symptoms; however, very often this target is not achieved in RHTN subjects. PDE-5 inhibitors have mild systemic vasodilatory effects, and recently, we demonstrated that administration of sildenafil in hypertensive rats improves LVDD, restoring PDE-5 inhibition in cardiac myocytes. This interventional study hypothesized that the long-acting PDE-5 inhibitor tadalafil may be clinically useful for improving LVDD in RHTN patients. A single blinded, placebo-controlled, one-way crossover study enrolled 19 patients with RHTN and LVDD. After the 2-week placebo period, subjects received tadalafil (20 mg) orally each day for 14 days. At baseline and 2 two weeks later, patients were evaluated by office BP measurements and ABPM, an assessment of endothelial function (FMD) and echocardiogram. Blood samples were drawn to evaluate brain natriuretic peptide (BNP-32), cGMP and nitrite levels. No significant differences were detected in office and ABPM measurements. Interestingly, at least 4 echocardiographic parameters related with diastolic function improved to the point of being within the normal range and this finding was accompanied by increase in cGMP

Powered by Editorial Manager® and Preprint Manager® from Aries Systems Corporation

TADALAFIL-INDUCED IMPROVEMENT IN LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION IN SUBJECTS WITH RESISTANT HYPERTENSION

Short title: Tadalafil in resistant hypertension

Authors: Rodrigo C. SANTOS^a; Ana P. C. DE FARIA^a; Natalia R. BARBARO^a; Silvia E. FERREIRA-MELO^a; José R. MATOS-SOUZA^a; Otávio R. COELHO^a; Vanessa FONTANA^a; Juan C. YUGAR-TOLEDO^b; David CALHOUN^c; Heitor MORENO-JR^a.

Affiliations:

^a Faculty of Medical Sciences – University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil. ^b State Medical School at São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brazil. ^c Division of Cardiovascular Disease, Vascular Biology and Hypertension Program, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, USA.

Oral presentation in the High Blood Pressure Research 2011 Scientific Sessions - Council of Hypertension (Orlando, FLA, USA).

Source of Funding: This study was supported by the State of São Paulo Research Foundation (Fapesp), São Paulo, Brazil.

Disclosures: None.

Corresponding author: Prof. Dr. Heitor Moreno Junior. Cardiovascular Pharmacology Laboratory, University of Campinas. P.O. BOX 6111, Campinas, 13083-970, SP, Brazil. Phone: +55 19 3521 9538; e-mail: hmoreno@uol.com.br

Word count: 5024

Number of tables: 2

Number of figures: 3

ABSTRACT

Left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction (LVDD) remain highly frequent biomarkers of cardiac damage and risk of progression to symptomatic heart failure (HF), especially in resistant hypertension (RHTN). Lowering BP may improve diastolic function and relieve HF symptoms; however, very often this target is not achieved in RHTN subjects. PDE-5 inhibitors have mild systemic vasodilatory effects, and recently, we demonstrated that administration of sildenafil in hypertensive rats improves LVDD, restoring PDE-5 inhibition in cardiac myocytes. This interventional study hypothesized that the long-acting PDE-5 inhibitor tadalafil may be clinically useful for improving LVDD in RHTN patients. A single blinded, placebo-controlled, one-way crossover study enrolled 19 patients with RHTN and LVDD. After the 2-week placebo period, subjects received tadalafil (20 mg) orally each day for 14 days. At baseline and 2 two weeks later, patients were evaluated by office BP measurements and ABPM, an assessment of endothelial function (FMD) and echocardiogram. Blood samples were drawn to evaluate brain natriuretic peptide (BNP-32), cGMP and nitrite levels. No significant differences were detected in office and ABPM measurements. Interestingly, at least 4 echocardiographic parameters related with diastolic function improved to the point of being within the normal range and this finding was accompanied by increase in cGMP and decrease in BNP-32, as well as reductions in dyspnea, palpitations and fatigue. The current findings suggest that tadalafil enhances LV relaxation and, despite its mild antihypertensive effect, may serve as an important adjunct to treat symptomatic hypertensive patients with evident LVDD.

Keywords: Left ventricle diastolic dysfunction, refractory hypertension, PDE5-inhibitors, cGMP, BNP-32.

INTRODUCTION

Resistant hypertension (RHTN) is defined as high blood pressure (BP) levels despite using three different classes of antihypertensive agents, including a diuretic, with all drugs being prescribed at optimal doses. Patients whose BP is controlled using four or more medications are also considered resistant to treatment [1]. RHTN leads to morphologic changes and functional alterations in the myocardial structure, including different patterns of left ventricular hypertrophy (LVH) alterations such as concentric remodeling, concentric hypertrophy and eccentric hypertrophy [2]. LVH remains a highly frequent biomarker of cardiac damage in the hypertensive population, especially in RHTN subjects [3]. In respect to these functional alterations, left ventricular diastolic dysfunction (LVDD) is the most common and carries an increased risk of progression to heart failure (HF) [4]. Lowering BP may improve diastolic function and relieve symptoms such as dyspnea, fatigue and palpitations in approximately 20-30% of RHTN patients [5]; however, very often this target is not achieved in RHTN subjects even with use of four or five antihypertensive drugs.

B-type natriuretic peptide (BNP) is mainly secreted by the left ventricle in response to elevated wall tension. Plasma levels of this peptide correlate positively with cardiac filling pressures, making it an excellent marker for the presence of LV dysfunction. Plasma BNP is also increased in many hypertensive subjects with LVH [6]. Thus, N-terminal prohormone of BNP (NT-proBNP) is a very strong prognostic marker, especially when combined with a history of cardiovascular disease [7]. However, the relationship between the various structural and functional features present in RHTN disease and the high BNP levels is not yet fully elucidated.

Phosphodiesterase-5 (PDE-5) is a vasodilator in the systemic circulation that may be effective as antihypertensive therapy in both treated and previously untreated subjects with mild-to-moderate hypertension [8, 9]. Recently, sildenafil, a PDE-5 inhibitor, was shown to cause a significant reduction in BP in a case-controlled trial when compared with placebo in RHTN subjects [10]. If confirmed, these findings suggest that this treatment approach may provide significant clinical benefit as an add-on antihypertensive drug. In fact, PDE- 5 inhibitors are drugs with proven safety and efficacy that have been acquiring novel uses over the last few years [11]. Mild systemic vasodilatory effects of PDE-5 inhibitors are attributable to blocking of the degradative action of the PDE-5 enzyme on cyclic guanosine monophosphate (cGMP) in vascular smooth muscle cells with subsequent arterial dilation, thereby enhancing the vasodilatory effects of nitric oxide (NO) [12]. However, more than one decade ago, studies demonstrated the expression of PDE-5 in myocytes of healthy and hypertensive rats [13, 14]. More recently, our group demonstrated that chronic administration of sildenafil in L-nitro arginine methyl ester (L-NAME) hypertensive rats improves LVDD, restoring PDE-5 inhibition in cardiac myocytes as evidenced by immunohistochemical exams and isolated heart Langendorff preparations [15].

This interventional study was designed to test the hypothesis that the long-acting PDE-5 inhibitor tadalafil is clinically useful for improving LVDD in RHTN patients and that this benefit is reflected by reductions in BNP levels absent significant change in mean BP.

METHODS

Patient population

Patients eligible for this study had been followed for at least five years at the Resistant Hypertension Clinic of the University of Campinas Teaching Hospital (Campinas, Brazil). They were submitted to a 6-month inclusion protocol with ambulatory BP monitoring (ABPM), screening for secondary hypertension and evaluation for non-adherence. After the investigation, the individuals with persistently high BP levels and that needed at least three antihypertensive drugs at optimal doses were enrolled into the study.

In addition to RHTN, inclusion criteria were LVDD grades 1 and 2 assessed by transthoracic echocardiography [16]. Patients who were prescribed nitrates or whose BP levels dropped during the screening period were excluded from the study. Patients with impaired renal function, symptomatic ischemic heart disease, liver disease, and history of stroke, peripheral vascular disease or any other major disease were also excluded. As we intended to isolate the effects of PDE-5 inhibition independent of changes in BP, two subjects were withdrawn from the study due to a decrease of more than 10 mmHg after starting tadalafil.

Participants were all informed about the investigative nature of this study, as well as of drug effects and possible adverse reactions. They received and signed a written consent form before being included in the study. This trial was approved by the Research Ethics Committee of the University of Campinas, São Paulo, Brazil (approval n.060/2009). In addition, this study is registered in ClinicalTrials.gov (Protocol ID: CAAE-0044.0.146.000-09).

Study design

A single blinded, placebo-controlled, one-way crossover design was conducted. Based on the above specified inclusion criteria, 19 patients with RHTN and LVDD were enrolled.

At baseline, patients were evaluated by office BP measurements and ABPM, an assessment of endothelial function using the flow-mediated dilation (FMD) technique and transthoracic echocardiographic exam. Blood samples were drawn to evaluate BNP-32, cGMP and nitrite levels. Following screening, an oral placebo was given daily to each subject for 14 days in addition to their respective antihypertensive treatment. At the end of this period, the same exams and blood tests were repeated. After 2 weeks of the placebo period, subjects received tadalafil (20 mg) orally each day for 14 days. At the end of the 2-week tadalafil treatment period, the diagnostic evaluations were repeated (Figure 1). In addition, subjects were queried about potential clinical benefits in LVDD-related symptoms including dyspnea, palpitations and fatigue. After completion of the study, subjects resumed their prior treatment regimen.

Office BP measurements

BP evaluations were obtained at approximately 8:00 am, using a certified digital sphygmomanometer (HEM-907 XL OMRON). After acquiring three consecutive values at 3-minute intervals, the first one was disregarded. Patients were seated comfortably, with their bladder emptied and the left arm at the height of the heart, after resting for 5 minutes [17].

Ambulatory BP monitoring

Twenty-four hour ABPM was done with use of an automatic oscillometric monitor (Spacelabs 90207, Spacelabs Inc, Redmon, WA). Subjects were instructed to continue with their normal daily activities, noting in a personal diary their nightly bedtimes.

Flow-mediated dilation

Endothelial function was assessed using the FMD method. After 8 hours of fasting, patients were submitted to brachial artery occlusion for five minutes, using an aneroid sphygmomanometer. Before and after compression, the vessel diameter was measured by ultrasound (Siemens Acuson CV70, Munich, Bavaria, Germany) with a vascular linear L12-3 transducer. The entire procedure followed the International Brachial Artery Reactivity Task Force guidelines [18], with patients in the supine position. As patients were not allowed to take nitrates, only the dependent vasodilation mechanism was evaluated.

Echocardiography

LV dimensions were evaluated according to American Society of Echocardiography recommendations [19]. LV mass was calculated by the ASE recommended formula [20]. The Doppler parameters used in the LV diastolic function evaluation were early mitral inflow peak (E-wave) and late diastolic peak (A-wave) velocities, the E/A ratio, E-wave deceleration time (DT) and isovolumetric relaxation time (IVRT). Tissue Doppler e' and a' velocities were also evaluated, both at the septal and lateral mitral annulus. The E/e' ratio, which is correlated with LV filling pressures [21], was then determined. Left atrial volume was calculated using Simpson's method [20], by obtaining planimetry using two different windows (four and two chambers) at the end of ventricular systole (T-wave peak). The atrial volume was indexed to body surface area. Mild LVDD (grade I) was characterized by a mitral E/A ratio < 0.8, DT > 200 ms, IVRT > 100 ms, annular e' < 8 cm/s (septal) or < 10 cm/s

(lateral) and the E/e' ratio < 8 (septal and lateral). Moderate LVDD (grade II) was characterized by a mitral E/A ratio between 0.8 and 1.5 (pseudonormal), the E/e' ratio between 9 and 12 and annular $e' < 8$ cm/s (septal) or < 10 cm/s. Severe LVDD occurred with a mitral E/A ratio > 1.5 , DT < 140 ms, IVRT > 100 ms and annular $e' < 8$ cm/s (septal) or < 10 cm/s (lateral). Two blinded independent investigators evaluated the measurements using cardiovascular ultrasound equipment (Siemens Acuson CV70, Munich, Bavaria, Germany) with a sector transducer (2-4 MHz). Echocardiographic measurements were evaluated by two experienced specialists blinded to patient clinical data. The intraobserver and interobserver coefficients of variation were 5.5% and 9.5%, respectively.

Laboratory assessments

Blood samples were collected from subjects to determine baseline levels of fasting glucose, glycated hemoglobin (HbA1c), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, creatinine clearance (using blood and urinary levels), cholesterol, HDL-c, LDL-c, triglycerides, uric acid, sodium and potassium.

Venous blood samples, collected in tubes containing EDTA for plasma BNP (BNP-32, Peninsula Laboratories, San Carlos, CA, USA) and cGMP (KGE003, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) levels, were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Additionally, blood samples were collected in tubes containing heparin and mixed with a nitrite preservation solution containing 0.8M ferricyanide and 1% NP-40 at a dilution of 5:1. The samples were deproteinized with methanol (1:1) and centrifuged at 14,000 g for 5 minutes. A 200 μ L aliquot of supernatant was then resuspended in acidified triiodide

solution and purged with a nitrogen in-line gas-phase chemiluminescence NO analyzer to measure the nitrite concentration [22].

Statistical analyses

All values were expressed as mean \pm standard deviation (SD). Normality of distribution was assessed by the Kolmogorov-Smirnov test. As the variables were assessed before or after placebo or tadalafil administration, the diastolic function variables, FMD and BP (office and ABPM) measurements and BNP-32, cGMP and nitrite levels were compared using the paired student's t-test. The level of significance (α) accepted was less than 0.05.

RESULTS

General clinical characteristics and antihypertensive therapy

Participant baseline characteristics are shown in Table 1. The study cohort included an almost equal gender distribution (10 male and 9 female) and no laboratory test abnormalities. The mean number of antihypertensive drugs administrated to each individual was 4.2 with 100% of them taking a diuretic at the beginning of the study. Subjects were also taking β -blockers (72.7%), angiotensin-converting enzyme inhibitors (45.4%), angiotensin receptor blockers (45.4%), calcium channel blockers (68.1%) and alpha-blockers (13.6%).

In respect to the echocardiographic findings, all patients presented normal systolic function and 70% of them had LVH. However, the mean left atrium volume was elevated in both genders, a very common LVDD characteristic [20]. But, none of these values showed any difference before and after tadalafil administration.

The main adverse effect of tadalafil was mild headache (two patients), which completely resolved with analgesic therapy (paracetamol). Common PDE-5 inhibitor adverse

effects such as dyspepsia, myalgia, joint pains, nausea and priapism were not reported by subjects treated with tadalafil or placebo.

Office BP measurements and ABPM

There were no significant differences in ABPM measurements between the study periods. Systolic BP changed from 134.7 ± 5.0 mmHg to 135.0 ± 7.2 mmHg ($p = 0.77$) and diastolic from 75.4 ± 7.3 mmHg to 73.2 ± 8.9 mmHg ($p = 0.25$). Similarly, when comparing office BP measurements, the values of systolic BP changed from 152.1 ± 15.1 mmHg to 149.9 ± 11.3 mmHg ($p = 0.11$) and diastolic BP from 82.1 ± 6.6 mmHg to 81.3 ± 7.1 mmHg ($p = 0.66$) (figure 2).

Flow-mediated dilation

When analyzing the percent variation in FMD, there was no significance difference before and after tadalafil treatment. The values ranged from $5.4 \pm 5.8\%$ to $6.6 \pm 7.0\%$ ($p = 0.49$) (figure 2).

Echocardiography

The conventional Doppler echocardiographic analysis of mitral inflow and tissue Doppler analysis of mitral annulus movement showed an improvement in LV diastolic function in 7 of the 11 measured variables. As presented in Table 2, the peak E-wave velocity, E/A ratio, E-wave deceleration time, lateral E'-wave velocity, isovolumic relaxation time and both septal and lateral S'-wave velocities all improved with tadalafil treatment. Interestingly, at least 4 parameters improved to the point of being within the normal range. This improvement in diastolic function was accompanied by reductions in dyspnea, palpitations and fatigue.

Laboratory assessments

The analyses demonstrated a decrease in the BNP-32 from 143.3 ± 33.3 to 119.3 ± 31.3 pg/mL ($p=0.003$) and an increase in the cGMP from 62.4 ± 32.2 to 112.6 ± 75.3 pmol/mL ($p=0.03$). However, the nitrite values showed no difference before and after the use of tadalafil (179.8 ± 113.7 vs. 159.4 ± 87.1 nM/L, $p=0.22$) (figure 3).

Placebo protocol

There were no significant changes in clinical or laboratory parameters during the placebo phase.

DISCUSSION

Two-weeks of tadalafil oral administration improved LV diastolic function in conjunction with an increase in cGMP and a decrease in BNP-32 levels in RHTN subjects. Noteworthy is the improvement in LV diastolic function occurred without significant change in clinic or ambulatory BP levels and was accompanied by reductions in dyspnea, palpitations and fatigue. Also, even with increases in cGMP levels, PDE-5 inhibition had no effects on endothelial function or nitrite levels.

Cyclic nucleotide phosphodiesterases comprise a superfamily of intracellular metallophosphohydrolases that specifically cleave the 3', 5'-cyclic phosphate moiety of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and/or cGMP to produce the corresponding 5-nucleotide [23]. It is well established that inhibition of PDE-5 by selective inhibitors such as sildenafil and tadalafil increases intracellular levels of cGMP, which can be beneficial in restoring vascular physiological function in situations in which NO formation is reduced. Although cGMP-selective PDE-5 has been thought to play a minor role in cardiac myocytes,

recent studies using selective inhibitors have suggested that PDE-5 can modulate chronic cardiac stress responses [24] by suppressing adrenergic-stimulated contractility [25]. In addition, recent studies have demonstrated PDE-5 expression and activity in cardiac myocytes [23, 26] and a role of PDE in modulation of cardiomyocyte hypertrophy [27, 28].

Concerning properties of PDE-5, we reported an experimental study in which Wistar rats treated with L-NAME and/or sildenafil for eight weeks demonstrated improvements in LVDD after PDE-5 administration [15]. Consistent with earlier findings [28], we also reported that PDE-5 is found in intercalated discs where it may play a role in diastolic relaxation [15]. Importantly, low concentrations of cGMP in unstimulated hearts can augment contractile function through this effect, probably being mediated by cross-talk with cAMP-dependent signaling [29].

PDE-5 is able to decrease beta-adrenergic receptor stimulation of L-type Ca (2+) via stimulating PKG; the antiadrenergic effect exists only with functional interaction between NO synthase 3 and PDE5 [30]. Data suggests that cGMP/PKG activation by NO or atrial natriuretic peptide or by constitutively activated PKG expression attenuates ventricle hypertrophy [31]. In addition, PDE5 depresses myofilament calcium sensitivity by increasing troponin I phosphorylation, thereby accounting for positive, lusitropic and negative inotropic effects [26, 32]. Taken together, these mechanisms indicate an important role for PDE-5 in cardiomyocyte relaxation and may explain the improvement in LVDD mediated by increased cGMP levels induced by tadalafil.

Recently, sildenafil was shown to improve functional capacity and clinical status in HF, providing the first evidence that LV diastolic function and cardiac geometry are additional targets of benefits related to chronic PDE-5 inhibition [33]. The results of the

current study extend these findings, suggesting that intervention with appropriate PDE-5 inhibiting agents may reduce LVDD in RHTN patients with preserved systolic function. These results were independent of age, BP, antihypertensive drug therapy and traditional cardiovascular risk factors. Recent evidence seems to show protection of the myocardium through complex pathways that involve NO, cGMP, and PKG and extracellular signal-regulated kinase [26, 34]. PDE-5 inhibitors also promote reverse remodeling and reduce myocardial apoptosis, fibrosis, and hypertrophy and thus represent a novel therapeutic target for PDE5 inhibitors [11, 30, 35].

In the current study, reversal of LVDD was clearly accompanied by decrease in BNP-32. The relationship between LVDD and NT-proBNP levels in patients with controlled hypertension without systolic dysfunction was first reported by Ceyhan et al. [36]. LVDD assessed using conventional Doppler (mitral inflow) and tissue Doppler echocardiography (mitral annulus) demonstrated that NT-proBNP levels are significantly correlated with E/E' ratio ($r = 0.80$; $p < 0.0001$), suggesting that the assessment of NT-proBNP is of potential diagnostic value in patients with hypertension to detect early cardiovascular changes due to LVDD [36]. Maeda et al. [37] reported significant positive correlations between LV end-diastolic pressure and BNP levels, i.e., both of them decreased after antihypertensive treatment with ACE inhibition. The authors confirmed that changes in BNP levels are biochemical markers of LVDD. BNP plays an important role in reversing remodeling and is directly released from ventricles when stretched by increased volume and/or pressure. Currently, increases in plasma BNP are recognized as an independent determinant of the increase in LV end-diastolic pressure and a powerful prognostic indicator of mortality in hypertensive patients [38].

Nitrite values showed no difference before and after the administration of tadalafil. We must recognize, however, that ,although nitrite in blood and tissue has been widely used as an index of endothelial NO synthase (NOS) and other NOS isoforms [39], high interindividual variability of nitrite levels suggest that it may not be a suitable marker for indexing endothelial function. In fact, there are a number of difficulties involved in the quantification of nitrite in biological systems. Thus, in spite of extreme care to collect and process blood samples to assay nitrites, its low levels *in vivo* and oxidation (within minutes) by heme proteins [22] may lead to inconsistent results. Finally, the lack of significant effects of tadalafil on circulating nitrite levels in our study may be explained by the fact that hypertensive patients included in the present study were taking at least three antihypertensive drugs when they received tadalafil. Almost all antihypertensive drugs may increase endogenous nitric oxide availability.

Tadalafil was well tolerated according to subject self-reports. This is an important consideration as most studies on PDE-5 inhibitors tested sildenafil, a short acting agent compared with tadalafil, which frequently causes unpleasant adverse effects. In addition, RHTN subjects very often are on multiple drug/multiple dose regimens that may reduce adherence to pharmacological treatment.

We recognize some important limitations of this study, including the single-blind and nonrandomized design, a relatively small number of subjects and follow-up limited to 2 weeks. Furthermore, the failure to detect differences in some variables such as brachial artery dilation and nitrite concentration may be due to a lack of statistical power or to an insufficient duration of follow-up. Third, as patients did not have their exercise capacity evaluated before and after tadalafil administration, improvement in symptoms such as dyspnea, fatigue and

palpitations was ascertained by subject self-report. Finally, this study evaluated RHTN patients, a subgroup of general hypertensive subjects, with a high prevalence of LVH. Thus, our results may not be generalized to other cohorts with less severe hypertension.

RHTN has been shown to be more likely related to obesity, sleep apnea, diabetes, metabolic syndrome, hyperaldosteronism [1] — all conditions associated with overexpression of humoral and hormonal factors promoting the development and maintenance of cardiac hypertrophy [40] and diastolic dysfunction [5]. These factors, in addition to chronic pressure overload, may explain the high prevalence of LVH and diastolic HF in this high-risk group. The results of this study advance our understanding on the benefit of hemodynamic effects of PDE-5 inhibitor tadalafil in RHTN patients with asymptomatic LVDD. Although clinical diagnosis of diastolic HF is increasing, and although a large spectrum of pathophysiological data is available, there are few trials evaluating therapy in these patients. Diastolic HF is a difficult-to-treat clinical condition in RHTN as there is no specific treatment targeting impaired LV relaxation separate from efforts to reduce BP levels. The current findings are therefore for important in suggesting that tadalafil enhances LV relaxation and thereby providing a novel therapeutic option for treatment of LVDD in RHTN patients.

This study has proved that a single dose of tadalafil 20 mg results in a significant improvement in LVDD independent of BP reduction in RHTN. To the best of our knowledge, this is the first clinical study to demonstrate the potential role of PDE5 inhibition to reverse LVDD in this subset of hypertensive patients even in absence of BP fall or improvement in endothelial dysfunction. We conclude that, despite its possible mild antihypertensive effect, tadalafil may serve as an important adjunct to treat symptomatic hypertensive patients with

evident LVDD. In addition, because of its longer half-life compared to sildenafil, tadalafil may be prescribed once a day and consequently more suitable for chronic administration in clinical practice. The findings support future larger-scale trials establish the clinical safety and efficacy of PDE-5 inhibition to treat LVDD in RHTN.

REFERENCES

1. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation* 2008; 117(25):e510-526.
2. Salles GF, Fiszman R, Cardoso CR, Muxfeldt ES. Relation of left ventricular hypertrophy with systemic inflammation and endothelial damage in resistant hypertension. *Hypertension* 2007; 50(4):723-728.
3. Salles GF, Cardoso CR, Fiszman R, Muxfeldt ES. Prognostic impact of baseline and serial changes in electrocardiographic left ventricular hypertrophy in resistant hypertension. *Am Heart J* 2010; 159(5):833-840.
4. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, Jr., Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA* 2003; 289(2):194-202.
5. Ubaid-Girioli S, Adriana de Souza L, Yugar-Toledo JC, Martins LC, Ferreira-Melo S, Coelho OR, et al. Aldosterone excess or escape: Treating resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2009; 11(5):245-252.
6. Kohno M, Horio T, Yokokawa K, Murakawa K, Yasunari K, Akioka K, et al. Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in essential hypertension. *Am J Med* 1992; 92(1):29-34.

7. Hildebrandt P, Boesen M, Olsen M, Wachtell K, Groenning B. N-terminal pro brain natriuretic peptide in arterial hypertension--a marker for left ventricular dimensions and prognosis. *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):313-317.
8. Oliver JJ, Melville VP, Webb DJ. Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension. *Hypertension* 2006; 48(4):622-627.
9. Wolk R, Smith WB, Neutel JM, Rubino J, Xuan D, Mancuso J, et al. Blood pressure lowering effects of a new long-acting inhibitor of phosphodiesterase 5 in patients with mild to moderate hypertension. *Hypertension* 2009; 53(6):1091-1097.
10. Oliver JJ, Hughes VE, Dear JW, Webb DJ. Clinical potential of combined organic nitrate and phosphodiesterase type 5 inhibitor in treatment-resistant hypertension. *Hypertension* 2010; 56(1):62-67.
11. Schwartz BG, Levine LA, Comstock G, Stecher VJ, Kloner RA. Cardiac uses of phosphodiesterase-5 inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59(1):9-15.
12. Chrysant SG, Chrysant GS. The pleiotropic effects of phosphodiesterase 5 inhibitors on function and safety in patients with cardiovascular disease and hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2012; 14(9):644-649.
13. Pokreisz P, Vandenwijngaert S, Bito V, Van den Bergh A, Lenaerts I, Busch C, et al. Ventricular phosphodiesterase-5 expression is increased in patients with advanced heart failure and contributes to adverse ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Circulation* 2009; 119(3):408-416.
14. Zhang M, Koitabashi N, Nagayama T, Rambaran R, Feng N, Takimoto E, et al. Expression, activity, and pro-hypertrophic effects of PDE5A in cardiac myocytes. *Cell Signal* 2008; 20(12):2231-2236.

15. Ferreira-Melo SE, Demacq C, Lacchini S, Krieger JE, Irigoyen MC, Moreno H. Sildenafil preserves diastolic relaxation after reduction by L-NAME and increases phosphodiesterase-5 in the intercalated discs of cardiac myocytes and arterioles. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66(7):1253-1258.
16. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; 22(2):107-133.
17. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42(6):1206-1252.
18. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(2):257-265.
19. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978; 58(6):1072-1083.
20. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18(12):1440-1463.

21. Rivas-Gotz C, Manolios M, Thohan V, Nagueh SF. Impact of left ventricular ejection fraction on estimation of left ventricular filling pressures using tissue Doppler and flow propagation velocity. *Am J Cardiol* 2003; 91(6):780-784.
22. Pelletier MM, Kleinbongard P, Ringwood L, Hito R, Hunter CJ, Schechter AN, et al. The measurement of blood and plasma nitrite by chemiluminescence: pitfalls and solutions. *Free Radic Biol Med* 2006; 41(4):541-548.
23. Reffelmann TKloner RA. Cardiovascular effects of phosphodiesterase 5 inhibitors. *Curr Pharm Des* 2006; 12(27):3485-3494.
24. Kukreja RC, Salloum F, Das A, Ockaili R, Yin C, Bremer YA, et al. Pharmacological preconditioning with sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications. *Vascul Pharmacol* 2005; 42(5-6):219-232.
25. Borlaug BA, Melenovsky V, Marhin T, Fitzgerald P, Kass DA. Sildenafil inhibits beta-adrenergic-stimulated cardiac contractility in humans. *Circulation* 2005; 112(17):2642-2649.
26. Francis SH, Busch JL, Corbin JD, Sibley D. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacol Rev* 2010; 62(3):525-563.
27. Kukreja RC, Ockaili R, Salloum F, Yin C, Hawkins J, Das A, Xi L. Cardioprotection with phosphodiesterase-5 inhibition--a novel preconditioning strategy. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36(2):165-173.
28. Takimoto E, Champion HC, Li M, Belardi D, Ren S, Rodriguez ER, et al. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med* 2005; 11(2):214-222.

29. Jiang H, Colbran JL, Francis SH, Corbin JD. Direct evidence for cross-activation of cGMP-dependent protein kinase by cAMP in pig coronary arteries. *J Biol Chem* 1992; 267(2):1015-1019.
30. Wang H, Kohr MJ, Traynham CJ, Ziolo MT. Phosphodiesterase 5 restricts NOS3/Soluble guanylate cyclase signaling to L-type Ca²⁺ current in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47(2):304-314.
31. Calderone A, Thaik CM, Takahashi N, Chang DL, Colucci WS. Nitric oxide, atrial natriuretic peptide, and cyclic GMP inhibit the growth-promoting effects of norepinephrine in cardiac myocytes and fibroblasts. *J Clin Invest* 1998; 101(4):812-818.
32. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circ Res* 2007; 101(11):1084-1095.
33. Guazzi M, Vicenzi M, Arena R, Guazzi MD. PDE5 inhibition with sildenafil improves left ventricular diastolic function, cardiac geometry, and clinical status in patients with stable systolic heart failure: results of a 1-year, prospective, randomized, placebo-controlled study. *Circ Heart Fail* 2011; 4(1):8-17.
34. Francis SH, Corbin JD. Molecular mechanisms and pharmacokinetics of phosphodiesterase-5 antagonists. *Curr Urol Rep* 2003; 4(6):457-465.
35. Konstantinos GP, Petros P. Phosphodiesterase-5 inhibitors: future perspectives. *Curr Pharm Des* 2009; 15(30):3540-3551.
36. Ceyhan C, Unal S, Yenisey C, Tekten T, Ceyhan FB. The role of N terminal pro-brain natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular diastolic dysfunction:

- correlation with echocardiographic indexes in hypertensive patients. *Int J Cardiovasc Imaging* 2008; 24(3):253-259.
37. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1998; 135(5 Pt 1):825-832.
 38. Paget V, Legedz L, Gaudebout N, Girerd N, Bricca G, Milon H, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a powerful predictor of mortality in hypertension. *Hypertension* 2011; 57(4):702-709.
 39. Dejam A, Hunter CJ, Pelletier MM, Hsu LL, Machado RF, Shiva S, et al. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood. *Blood* 2005; 106(2):734-739.
 40. Martins LC, Figueiredo VN, Quinaglia T, Boer-Martins L, Yugar-Toledo JC, Martin JF, et al. Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *J Hum Hypertens* 2011; 25(9):532-538.

Table 1. Baseline characteristics of patients

	N=19
Gender (%) (Male/Female)	52.6/47.4
Age (years)	60.5 ± 9.3
BMI (kg/m ²)	31.8 ± 6.6
HbA1c (%)	5.5 ± 0.5
Glycemia (mg/dL)	101.6 ± 14.7
BUN (mg/dL)	47.4 ± 29.0
Creatinine (mg/dL)	1.2 ± 0.6
Creatinine Clear (ml/min/1.73m ²)	81.9 ± 29.3
Cholesterol (mg/dL)	117.5 ± 36.1
Triglycerides (mg/dL)	120.7 ± 64.2
Aorta (mm)	31.4 ± 3.7
Left Atrium	
Volume (ml/m ²)	
Male	31.9 ± 6.1
Female	33.2 ± 6.4
LVEDD (mm)	51.8 ± 5.1
LVESD (mm)	30.8 ± 5.8
Septum (mm)	10.4 ± 1.4
LVPWd (mm)	10.5 ± 1.1
LV mass index (g/m ²)	
Male	118.3 ± 7.0

Female	110.7 ± 17.4
LV ejection fraction (%)	70.5 ± 5.9

BMI=body mass index; HbA1c= glycated hemoglobin; BUN=blood urea nitrogen; LVEDD=left ventricle end-diastolic diameter; LVESD=left ventricle end-systolic diameter; LVPWd=left ventricle posterior wall diameter. Values are expressed as mean ± standard deviation.

Table 2. Left ventricular diastolic function parameters before and after taking tadalafil

	Pre-tadalafil	Post-tadalafil
Peak E-wave velocity (cm/s)	67.8 ± 18.3	77.8 ± 16.0*
Peak A-wave velocity (cm/s)	77.8 ± 16.2	75.1 ± 18.9
E/A ratio	0.9 ± 0.3	1.08 ± 0.3*
E-wave deceleration time (ms)	234.1 ± 46.0	194.4 ± 43.3*
Isovolumic relaxation time (ms)	128.7 ± 17.6	96.8 ± 26.9*
Septal E' wave velocity (cm/s)	5.6 ± 1.2	6.1 ± 1.4
Septal A' wave velocity (cm/s)	9.5 ± 2.1	9.4 ± 2.1
Lateral E' wave velocity (cm/s)	7.7 ± 2.1	8.8 ± 2.8*
Lateral A' wave velocity (cm/s)	11.0 ± 2.4	10.4 ± 1.9
Septal S' wave velocity (cm/s)	6.3± 1.4	7.7± 1.7*
Lateral S' wave velocity (cm/s)	7.5± 2.3	8.3± 2.2*
Septal E/E' ratio	13.2 ± 0.9	13.4 ± 0.6
Lateral E/E' ratio	11.7 ± 0.9	11.8 ± 1.1

Values are expressed as means ± standard deviation. *p<0.05.

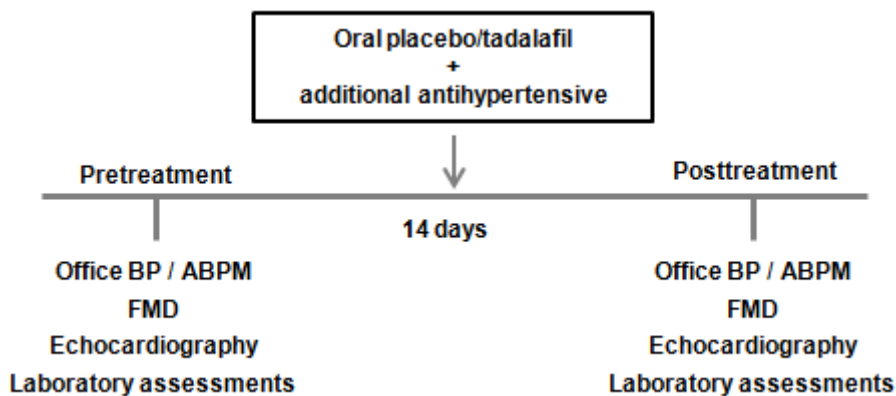


Figure 1: Study design. First, patients using oral placebo were submitted to clinical and laboratory measurements in pre- and posttreatment. After two weeks resting, the same protocol was repeated in patients using oral tadalafil 20mg

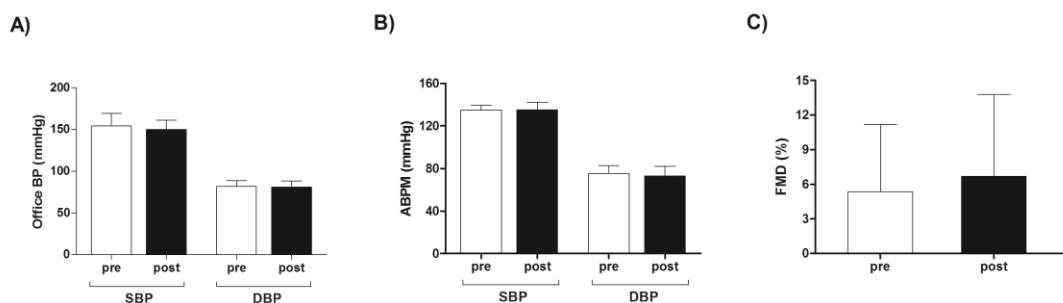


Figure 2: Office BP (SBP, $p=0.09$; DBP, $p=0.22$; fig.2A), ABPM (SBP, $p=0.77$; DBP, $p=0.25$; fig.2B) levels and FMD before and after taking tadalafil ($p=0.49$; fig. 2C).

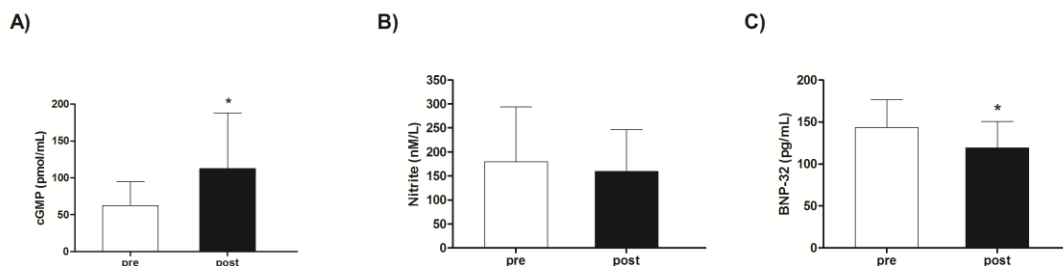


Figure 3: cGMP ($p=0.03$; fig. 3A), nitrite ($p=0.22$; fig. 3B) and BNP-32 ($p=0.003$; fig.3C) concentrations before and after taking tadalafil.

CAPÍTULO II



Infliximab reduces cardiac output in rheumatoid arthritis patients without heart failure

RODRIGO CARDOSO SANTOS¹, VALÉRIA NASSER FIGUEIREDO¹, LUIZ CLÁUDIO MARTINS¹, CAROLINA DE HARO MORAES², THIAGO QUINAGLIA¹, LEANDRO BOER-MARTINS³, SÍLVIA ELAINE FERREIRA-MELO⁴, MICHEL ALEXANDRE YAZBEK⁵, MANOEL BERTOLO¹, HEITOR MORENO JUNIOR¹

¹ MD, PhD; Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

² Pharm D, MSc; Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

³ MD, PhD; Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, UNICAMP, Campinas, SP, and Cardiovascular and Metabolism Unit, Pharma Sector, Novartis Biociências SA, São Paulo, SP, Brazil

⁴ Pharm D, PhD; Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

⁵ MD; Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

SUMMARY

Objective: Human anti-tumor necrosis factor (TNF- α) monoclonal antibody (infliximab) is used to treat autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis (RA). Although the risk of worsening heart failure has been described in patients under chronic treatment, the acute cardiovascular effects of this drug are unknown in RA patients without heart failure. **Methods:** 14 RA patients with normal echocardiography and no history of heart failure were evaluated during the 2-hour infliximab (3-5 mg/kg) infusion period, using a noninvasive hemodynamic beat-to-beat system (Portapres). Stroke volume (SV); systolic, diastolic and mean blood pressures (SBP, DBP and MBP, respectively); cardiac output (CO); heart rate (HR); and total peripheral vascular resistance (PVR) were recorded. All patients also received saline infusion instead of infliximab as a control. Significant differences in hemodynamic parameters were determined using Tuckey's test. All values were expressed as mean \pm standard deviation (SD). **Results:** Fourteen RA patients (6M/8F) with mean age of 47.2 ± 8.8 years were evaluated. A significant decrease was found in cardiac output and stroke volume (7.04 ± 2.3 to 6.12 ± 2.1 l/min and 91 ± 29.0 to 83 ± 28.8 mL/beat, respectively) after infliximab infusion. Although not statistically significant, a progressive increase was detected in SBP, DBP and total PVR during infusion. Saline infusion did not cause significant hemodynamic changes in the same group of RA patients. No adverse effects were observed during the infusion period. **Conclusion:** Acute infliximab administration decreased cardiac output due to low stroke volume in RA patients without heart disease. The results also demonstrated that, in spite of its negative inotropic effect, infliximab enhanced BP, probably by increasing PVR.

Keywords: Infliximab; TNF- α inhibitors; autoimmune diseases; rheumatoid arthritis; heart failure.

©2012 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

RESUMO

Infliximabe reduz débito cardíaco em pacientes com artrite reumatoide sem insuficiência cardíaca

Objetivo: O inibidor de fator de necrose tumoral (TNF- α) infliximabe é usado no tratamento de doenças autoimunes como a artrite reumatoide (AR). Embora o risco de piora de insuficiência cardíaca em pacientes submetidos a tratamento crônico tenha sido descrito, os efeitos cardiovasculares agudos da infusão desta droga em pacientes com AR sem insuficiência cardíaca são desconhecidos. **Métodos:** Pacientes com AR e ecocardiogramas normais e sem antecedentes de insuficiência cardíaca foram avaliados durante o período de infusão de infliximabe (3-5mg/kg), de 2 horas, utilizando um sistema de monitoramento hemodinâmico não invasivo batimento-a-batimento (Portapres). As variáveis avaliadas foram: volume sistólico (VS), pressão arterial sistólica, diastólica e média (PAS, PAD e PAM, respectivamente), débito cardíaco (DC), frequência cardíaca (FC) e resistência vascular periférica total (RVPT). Todos os voluntários também receberam infusão de soro fisiológico (SF) como estudo controle. Estatísticas foram avaliadas usando o teste de Tuckey. Os valores estão expressos em média \pm desvio-padrão. **Resultados:** Catorze pacientes (6M/8F), com idade média de $47,2 \pm 8,8$ anos, foram avaliados. Reduções significativas no débito cardíaco e volume sistólico foram encontradas após a infusão do infliximabe ($7,04 \pm 2,3$ a $6,12 \pm 2,1$ L/min e $91 \pm 29,0$ a $83 \pm 28,8$ mL/batimento, respectivamente). Embora não estatisticamente significativa, detectaram-se aumentos progressivos na PAS, PAD e RVPT durante a infusão. A infusão controle de SF não causou mudanças hemodinâmicas significativas nos pacientes estudados. Não foram observados efeitos adversos no período de infusão. **Conclusão:** A administração de infliximabe reduz agudamente o débito cardíaco devido a redução no volume sistólico em pacientes com AR sem insuficiência cardíaca. Nossos resultados mostram que, apesar do efeito inotrópico negativo, o infliximabe elevou a pressão arterial, provavelmente devido ao aumento na RVPT.

Unitermos: Infliximabe; inibidores de TNF- α ; doenças autoimunes; artrite reumatoide; insuficiência cardíaca.

©2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Study conducted at Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil

Submitted on: 01/20/2011
Approved on: 07/24/2012

Correspondence to:
Heitor Moreno Junior
Cardiovascular Pharmacology
Laboratory
Universidade Estadual de
Campinas
FCM 10 Building, 1st 30 Floor
Campinas – SP, Brazil
CEP: 13083-970
Phone: +55 19 3521 9538
Fax: +55 19 3289 2968
hmoreno@uol.com.br

Conflict of interest:
Leandro Boer-Martins is an employee of Novartis Biociências S.A. (Brazil). The other authors declare to have no conflict of interest.

INTRODUCTION

Affecting men and women, rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease of unknown etiology, whose prevalence increases with age. It primarily affects distal joints, causing destruction and deformation due to bone and cartilage erosion. In addition to joints, it affects other sites, such as the lungs and heart.

Over the last decade, the use of some antirheumatic drugs (DMARDs) has changed the disease course; particularly, methotrexate (MTX) and corticosteroids have dramatically enhanced the success of RA management^{1,2}. In addition, the use of tumor necrosis factor- α (TNF- α) inhibitors was a major breakthrough in RA treatment.

Cardiovascular diseases are associated with increased inflammatory activity in RA, and this fact may be related to increased risk of heart failure³. TNF- α is an inflammatory cytokine present in RA and is also related to cardiac injury through a variety of biological mechanisms, thus contributing to the progression of heart failure³. Although TNF- α inhibitors represent a major advance in the treatment of rheumatic disease, their impact on cardiovascular risk in RA is unknown. These observations led to several large randomized controlled trials designed to assess the efficacy of TNF- α inhibitor therapy in the treatment of heart failure. Unfortunately, these efforts were unsuccessful, since such trials were stopped prematurely due to lack of efficacy and worsening of heart failure in the groups treated with anti-TNF- α ³⁻⁵.

Thus, although some useful insights were offered, there are still several unanswered questions regarding the safety of anti-TNF- α use⁶. For example, it is still unknown whether TNF- α inhibitor infusion causes acute cardiovascular effects in RA patients without cardiac diseases.

METHODS

PATIENT POPULATION

RA patients followed in the Rheumatology Outpatient Clinic at the Teaching Hospital of the Universidade de Campinas with RA refractory to the usual treatment, according to the Brazilian Consensus for the Diagnosis and Treatment of Rheumatoid Arthritis⁷ as well as the American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria⁸, participated in a protocol using the TNF- α inhibitor infliximab (Remicade®, Merck & Co – United States). Fourteen patients following treatment with methotrexate 12.5mg to 20mg/week and at least one conventional DMARD were included in the present study. Eight of them were also using corticosteroids. At the time of the study, each patient had received at least four cycles of infliximab infusion.

All individuals completed a medical history questionnaire, and were submitted to physical examinations, electrocardiography, echocardiography, and biochemical

tests. Patients with signs and symptoms of heart failure and abnormal echocardiogram⁹ were excluded. In addition, patients with impaired renal function, ischemic heart disease, liver disease, stroke, peripheral vascular disease, dyslipidemia, diabetes, or any other major diseases, as well as smokers, were also excluded. All subjects signed an informed consent, and the study was approved by the university's ethics committee.

STUDY DESIGN

This study comprised 14 patients with RA. Data collection was performed before, during, and after a 3-5 mg/kg infliximab dose was intravenously administered to each patient over a two-hour period. During this time, the calm, comfortably seated patients were monitored by a noninvasive system for hemodynamic evaluation, 15 minutes before and 15 minutes after infusion, and by office blood pressure (BP) measurements. After infusion, patients underwent a two-hour observation period, and were then discharged.

Two weeks after this first protocol, all 14 patients received a saline intravenous infusion (500 mL) for two hours, and hemodynamic measurements were obtained as a control.

OFFICE BLOOD PRESSURE

Clinical values of BP were obtained three times from each patient, using a digital monitor (HEM-907 XL OMRON)¹⁰. While measuring BP, the participant remained seated with the arm comfortably placed at heart level¹¹. BP was considered the mean of the two readings. Pulse pressure (PP) was calculated as: systolic BP (SBP) - diastolic BP (DBP).

HEMODYNAMIC ASSESSMENT (PORTAPRES SYSTEM)

The Portapres system (Finapres Medical Systems B.V. – Amsterdam, the Netherlands) was used for hemodynamic monitoring^{4,12-14}. Two cuffs were positioned on the middle phalanx of the third and fourth fingers, with the device alternating fingers every 30 min; the hand to which the measurement unit was applied was held in a constant position. The device measured hemodynamic parameters in real-time (beat-to-beat), including: heart rate (HR), the number of heartbeats per minute; SBP; and DBP. Portapres also registered the arterial pressure wave, comparing it with a database of more than 2,000 waves and then estimating: stroke volume (SV), the volume of blood ejected from the left ventricle with each beat; cardiac output (CO), the volume of blood pumped by the heart in an one minute interval ($CO = SV \times HR$); mean blood pressure (MBP); and total peripheral vascular resistance (PVR), the sum of the resistance of peripheral vasculature in the systemic circulation. Thus, it provided a complete hemodynamic assessment of the cardiovascular system using a noninvasive method.

DISEASE ACTIVITY

Disease activity was measured using two parameters: a functional disability questionnaire known as Health Assessment Questionnaire (HAQ)^{15,16} and the disease activity score (DAS 28), as well as certain routine inflammatory markers such as c-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR). The anti-cyclic citrullinated peptide usually used for RA diagnosis was not performed in this study⁸.

STATISTICAL ANALYSIS

The Statistical Analysis System, version 8.02 (SAS Institute Inc. – Cary, NC, USA), was used for all statistical analyses. Normal distribution was assessed by the Kolmogorov-Smirnov test. Significant hemodynamic differences during the protocol were determined using Tuckey's test. A p-value < 0.05 indicated significance. All values were expressed as mean ± standard deviation (SD).

RESULTS

The general characteristics of the patients are listed in Table 1. Baseline echocardiographic findings are shown in Table 2. The mean age of RA was 47.2 ± 8.8 years; women comprised 57% of the patients, and biochemical test results were normal. The mean left ventricle ejection fraction was 70.3 ± 4.3%.

Disease activity variables are also shown in Table 1, including rheumatoid factor levels at the time of treatment evaluation.

A significant decrease in cardiac output and stroke volume was observed after two-hour infliximab infusion (7.04 ± 2.3 to 6.12 ± 2.1 L/min and 91 ± 29.0 to 83 ± 28.8 mL/beat, respectively). Conversely, SBP, DBP, and PVR progressively increased during infliximab infusion. These hemodynamic findings were normalized to each individual body surface area and are expressed in Graphic 1.

No symptoms were reported during the TNF-α inhibitor administration.

No hemodynamic changes were observed during saline infusion protocol in the same RA patients. Results are shown in Table 3.

DISCUSSION

The present study demonstrated that cardiac index and stroke volume index progressively decreased during infliximab infusion in individuals not presenting clinical and echocardiographic evidences of heart failure and following chronic treatment for rheumatoid arthritis. In healthy subjects, but not in RA patients, the normal cardiac response for saline infusion should be an increase in stroke volume and cardiac output of approximately 10%, without significant change in heart rate or blood pressure¹⁷. These results found could not be due to other drugs taken by

Table 1 – General characteristics of patients with rheumatoid arthritis

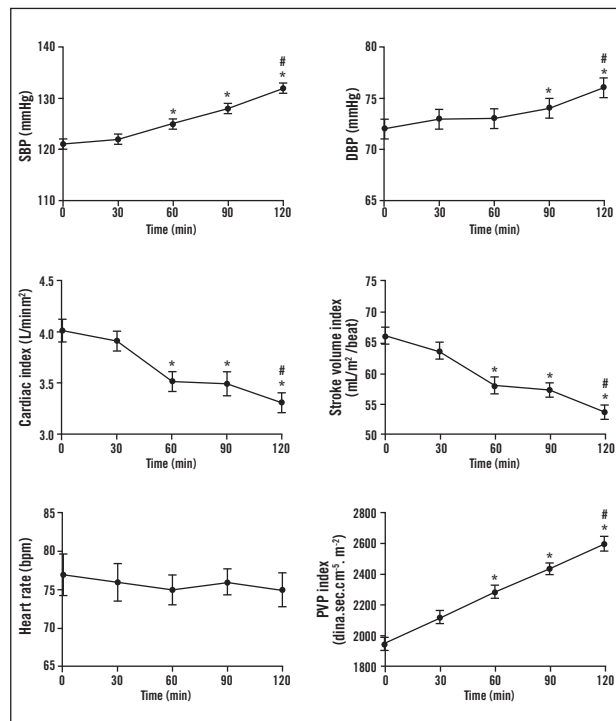
Clinical data	RA (n = 14)
Age (years)	47.2 ± 8.8
BMI (kg/m ²)	27.6 ± 1.3
Gender M/F	6/8
RA duration (years)	10.9 ± 4.4
Blood pressure	
Office SBP (mmHg)	121.0 ± 10.9
Office DBP (mmHg)	78.1 ± 10.7
Laboratory parameters	
Glycemia (mg/dL)	78.6 ± 17.0
Total cholesterol (mg/dL)	174.1 ± 20.5
LDL cholesterol (mg/dL)	89.3 ± 16.7
Triglycerides (mg/dL)	141.8 ± 58.7
Potassium (mEq/L)	4.1 ± 0.7
Creatinine (mg/dL)	1.0 ± 0.1
AST (mg/dL)	20 ± 3.4
ALT (mg/dL)	20 ± 10
DAS	
DAS 28	4.3 ± 2.0
HAQ	11.4 ± 3.6
Inflammatory markers	
CRP	2.4 ± 1.8
ESR	31.9 ± 18.6
Rheumatoid factor +/-	10/4

RA, rheumatoid arthritis; n, number of patients; BMI, body mass index; M/F, male/female; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; LDL, low-density lipoproteins; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; DAS, Disease Activity Score; HAQ, Health Assessment Questionnaire; CRP, c-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate. Values are expressed as means ± SD.

Table 2 – Pre-study transthoracic echocardiography parameters in RA patients

	RA (n = 14)
Aorta (mm)	28.1 ± 2.0
LA (mm)	36.6 ± 2.7
LV septal thickness (mm)	9.5 ± 0.5
LV posterior wall thickness (mm)	9.1 ± 1.1
LV end-diastolic diameter (mm)	50.8 ± 3.0
LV end-systolic diameter (mm)	31.9 ± 2.8
Ejection fraction (%)	70.3 ± 4.3
LV mass/BSA (g/m ²)	96.0 ± 9.2

RA, rheumatoid arthritis; LA, left atrium; LV, left ventricle; BSA, body surface area. Values are expressed as means ± SD.



Graphic 1 – Hemodynamic changes during 2-hour infliximab infusion (3-5 mg/kg) in RA patients (n = 14). *p < 0.001 versus before infusion. #p < 0.05 versus 60 minutes. SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure, PVR, peripheral vascular resistance.

Table 3 – Control group hemodynamic parameters

RA (n=14)	Before saline	After saline
SBP (mmHg)	163 ± 13	161 ± 15
DBP (mmHg)	86.7 ± 8.2	88.3 ± 3.1
Heart rate (bpm)	74.3 ± 17.0	74.67 ± 11.7
Stroke volume (mL)	80.5 ± 16.9	80.9 ± 24.4
Cardiac output (L/min)	6.1 ± 2.7	6.2 ± 2.9
Peripheral vascular resistance (dina.sec.cm ⁻⁵)	1,701 ± 708.9	1,771 ± 718.4

RA, rheumatoid arthritis; n, number of patients; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure. Values are expressed as means ± standard deviation.

patients, since infliximab was the only new treatment administered during the study. Also, there are no reports of cardiac injury caused by infliximab synergism with other drugs. Therefore, only a direct effect of infliximab on the heart could be responsible for the impairment in cardiac output in these patients. Inversely to healthy individuals¹⁷, SPB and total PVR increased during the TNF- α inhibitor administration. To the authors' knowledge, this is the first time that hemodynamic parameters have been evaluated in RA patients during acute infusion of infliximab in order

to better evaluate its impact on cardiovascular function. It is noteworthy that hemodynamic measurements were obtained by using the Portapres system, which has a near-zero bias (7% error) when compared with gold standard invasive methods such as triplicate thermodilution. It is probable that the two large randomized trials that studied anti-TNF- α infusion in heart failure patients did not detect cardiovascular effects because low doses of infliximab were administered, and hemodynamic parameters were not monitored by an accurate method such as the Portapres system. Using this system, the present findings demonstrated that, even using moderate infliximab doses, its acute infusion may cause asymptomatic cardiac dysfunction.

It is known that the main cause of death in RA is cardiovascular disease (CVD)¹⁸, and the overall increase in heart failure among RA patients may be related to increased inflammatory activity, perhaps leading to premature atherosclerosis. In fact, clinical markers of inflammation have been associated with cardiovascular mortality and morbidity in RA patients⁵. Contrarily to the healthy cardiac tissue, heart failure is of special interest because the failing heart produces TNF¹⁹. Inversely to the lack of data regarding the effects of circulating TNF- α on cardiovascular function in humans¹⁹⁻²², studies in mice using heart failure models suggest improvement in ventricular dysfunction by circulating TNF blockade^{23,24}. However, these results could not be reproduced in patients, and on the contrary, clinical trials showed that patients with heart failure had no benefit from the anti-TNF- α drug use, and it could even make their disease worse. These large randomized trials confirmed that patients with heart failure NYHA class III-IV had disease progression associated with infusion of high doses of anti-TNF- α (10mg/kg). Nevertheless, the safety of patients without heart failure is still uncertain^{21,25}.

Several pathophysiologic mechanisms contribute to cardiac injury, especially elevated oxidative stress and inflammation, which correlate with a variety of conditions such as hypertension, coronary artery disease, cardiomyopathy, atherosclerosis, and heart failure²⁶. TNF- α is the most important cytokine related to these mechanisms. Increased TNF- α levels in inflammatory states lead to a high concentration of reactive oxygen species (ROS), in a vicious cycle, causing elevation of pro-oxidants. The imbalance between pro-oxidants and antioxidants causes systemic injury, including heart failure by DNA damage, protein nitration, lipid peroxidation, and activation of matrix metalloproteinases^{27,28}.

Conversely, despite the fact that TNF- α inhibition can both preserve cardiac function and partially reverse pathological changes in congestive heart failure²⁴ in animal models, this could not be reproduced in humans. Such

difficulty has probably occurred because mice heart failure models were transgenic (TNF1.6) with cardiac-specific overexpression of TNF- α , and heart failure in humans has several enrolled cytokines and ROS due to inflammation. The question “why is TNF- α inhibition harmful?” remains answered. According to some authors, infliximab can cause cell lyses in the presence of a complement²⁹, as well as a rebound effect of TNF- α toxicity on infliximab infusion²². Since the actual cause is not known, there is no evidence regarding the safe dose of infliximab.

Some relevant aspects should be highlighted when analyzing these results, because a number of potential limitations must be considered. First, a small number of RA patients were enrolled in the study. However, even studying a small sample of subjects, the Portapres system allows for continuous recording (beat-to-beat) of hemodynamic variables; the standard errors of means were very small and a test power of 0.72 was achieved. Second, patients did not have a long-term follow-up, so the accumulative dose effects of infliximab on cardiac function could not be analyzed. And finally, due to the small sample of patients studied, there was no standardization of RA duration and severity.

The present findings suggest that a two-hour infliximab infusion decreases cardiac output and stroke volume, even in RA patients without clinical and echocardiographic evidences of previous cardiac dysfunction. The results also demonstrate that, in spite of its possible negative inotropic effect, infliximab may enhance BP, probably by increasing PVR. However, considering the limitations of this study and of others, further investigations on acute and long-term administration of this anti-TNF- α drug, involving a higher number of subjects, should be performed in order to assess the safety of this RA treatment.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Brazil.

REFERENCES

- Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2007;370:1861-74.
- Doan T, Massarotti E. Rheumatoid arthritis: an overview of new and emerging therapies. *J Clin Pharmacol*. 2005;45:751-62.
- Mann DL. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present, and the foreseeable future. *Circ Res*. 2002;91:988-98.
- Lysander WJ, Van Lieshout JJ. Non-invasive pulsatile arterial pressure and stroke volume changes from the human finger. *Exp Physiol*. 2005;90:437-46.
- Wallberg-Jonsson S, Johansson H, Ohman ML, Rantapaa-Dahlqvist S. Extent of inflammation predicts cardiovascular disease and overall mortality in seropositive rheumatoid arthritis. A retrospective cohort study from disease onset. *J Rheumatol*. 1999;26:2562-71.
- Wolfe F, Flowers N, Burke TA, Arguelles LM, Pettitt D. Increase in lifetime adverse drug reactions, service utilization, and disease severity among patients who will start COX-2 specific inhibitors: quantitative assessment of channeling bias and confounding by indication in 6689 patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2002;29:1015-22.
- Bértolo MB, Brenol CV, Schainberg CG, Neubarth F, Lima FAC, Laurindo IM, et al. Atualização do consenso brasileiro no diagnóstico e tratamento da artrite reumatóide. *Rev Bras Reumatol*. 2007;47:151-9.
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010;62:2569-81.
- Lang EA. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18:1440-63.
- El Assaad MA, Topouchian JA, Darne BM, Asmar RG. Validation of the Omron HEM-907 device for blood pressure measurement. *Blood Press Monit*. 2002;7:237-41.
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-72.
- Langewouters GJ, Settels JJ, Roelandt R, Wesseling KH. Why use Finapres or Portapres rather than intra-arterial or intermittent non-invasive techniques of blood pressure measurement? *J Med Eng Technol*. 1998;22:37-43.
- Jansen JRC, Schreuder JJ, Mulier JP, Smith NT, Settels JJ, Wesseling KH. A comparison of cardiac output derived from the arterial pressure wave against thermodilution in cardiac surgery patients. *Br J Anaesth*. 2001;87:212-22.
- Leonetti P, Audat F, Girard A, Laude D, Lefrère F, Elghozi J. Stroke volume monitored by modeling flow from finger arterial pressure waves mirrors blood volume withdrawn by phlebotomy. *Clin Auton Res*. 2004;14:176-81.
- Ramey DR, Raynauld JP, Fries JF. The health assessment questionnaire 1992: status and review. *Arthritis Care Res*. 1992;5:119-29.
- Wolfe F. A reappraisal of HAQ disability in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000;43:2751-61.
- Kumar A, Anel R, Bunnell E, Habet K, Neumann A, Wolff D, et al. Effect of large volume infusion on left ventricular volumes, performance and contractility parameters in normal volunteers. *Intensive Care Med*. 2004;30:1361-9.
- Ku IA, Imboden JB, Hsue PY, Ganz P. Rheumatoid arthritis: model of systemic inflammation driving atherosclerosis. *Circ J*. 2009;73:977-85.
- van de Putte LB, Atkins C, Malaise M, Sany J, Russell AS, van Riel PL, et al. Efficacy and safety of adalimumab as monotherapy in patients with rheumatoid arthritis for whom previous disease modifying antirheumatic drug treatment has failed. *Ann Rheum Dis*. 2004;63:508-16.
- Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Moreland LW, Weisman MH, Birkbar CA, et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: the ARMADA trial. *Arthritis Rheum*. 2003;48:35-45.
- Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Eten receptor Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation*. 2004;109:1594-602.
- Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation*. 2003;107:3133-40.
- Kubota T, Bounoutas GS, Miyagishima M, Kadokami T, Sanders VJ, Bruton C, et al. Soluble tumor necrosis factor receptor abrogates myocardial inflammation but not hypertrophy in cytokine-induced cardiomyopathy. *Circulation*. 2000;101:2518-25.
- Kadokami T, Frye C, Lemster B, Wagner CL, Feldman AM, McTiernan CF. Anti-tumor necrosis factor-alpha antibody limits heart failure in a transgenic model. *Circulation*. 2001;104:1094-7.
- Zink A, Strangfeld A, Schneider M, Herzer P, Hierse F, Stoyanova-Scholz M, et al. Effectiveness of tumor necrosis factor inhibitors in rheumatoid arthritis in an observational cohort study: comparison of patients according to their eligibility for major randomized clinical trials. *Arthritis Rheum*. 2006;54:3399-407.
- Khaper N, Bryan S, Dhingra S, Singal R, Bajaj A, Pathak CM, et al. Targeting the vicious inflammation-oxidative stress cycle for the management of heart failure. *Antioxid Redox Signal*. 2010;13:1033-49.
- Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest*. 2005;115:500-8.
- Matsuzawa A, Ichijo H. Redox control of cell fate by MAP kinase: physiological roles of ASK1-MAP kinase pathway in stress signaling. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1780:1325-36.
- Scallion BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Gharyeb J. Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions. *Cytokine*. 1995;7:251-9.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Arq Bras Cardiol, 2010. **95**(1 Suppl): p. 1-51.
2. Chobanian, A.V., et al., *Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure*. Hypertension, 2003. **42**(6): p. 1206-52.
3. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensao Arterial. Arq Bras Cardiol, 2007. **89**(3): p. e24-79.
4. Mogelvang, R., et al., *Cardiac dysfunction assessed by echocardiographic tissue Doppler imaging is an independent predictor of mortality in the general population*. Circulation, 2009. **119**(20): p. 2679-85.
5. Quinaglia, T., et al., *Non-dipping pattern relates to endothelial dysfunction in patients with uncontrolled resistant hypertension*. J Hum Hypertens, 2011. **25**(11): p. 656-64.
6. Pokreisz, P., et al., *Ventricular phosphodiesterase-5 expression is increased in patients with advanced heart failure and contributes to adverse ventricular remodeling after myocardial infarction in mice*. Circulation, 2009. **119**(3): p. 408-16.
7. Senzaki, H., et al., *Cardiac phosphodiesterase 5 (cGMP-specific) modulates beta-adrenergic signaling in vivo and is down-regulated in heart failure*. FASEB J, 2001. **15**(10): p. 1718-26.
8. Ferreira-Melo, S.E., et al., *Sildenafil preserves diastolic relaxation after reduction by L-NAME and increases phosphodiesterase-5 in the intercalated discs of cardiac myocytes and arterioles*. Clinics (Sao Paulo), 2011. **66**(7): p. 1253-8.
9. Yugar-Toledo, J.C., et al., *Cyclic guanosine monophosphate phosphodiesterase-5 inhibitor promotes an endothelium NO-dependent-like vasodilation in patients with refractory hypertension*. Nitric Oxide, 2007. **16**(3): p. 315-21.
10. Cesarino, C.B., et al., *Prevalence and sociodemographic factors in a hypertensive population in Sao Jose do Rio Preto, Sao Paulo, Brazil*. Arq Bras Cardiol, 2008. **91**(1): p. 29-35.
11. Rosario, T.M., et al., *Prevalence, control and treatment of arterial hypertension in Nobres - MT*. Arq Bras Cardiol, 2009. **93**(6): p. 622-8, 672-8.
12. Jardim, P.C., et al., *High blood pressure and some risk factors in a Brazilian capital*. Arq Bras Cardiol, 2007. **88**(4): p. 452-7.
13. de Souza, W.A., et al., *Effect of pharmaceutical care on blood pressure control and health-related quality of life in patients with resistant hypertension*. Am J Health Syst Pharm, 2007. **64**(18): p. 1955-61.
14. Calhoun, D.A., et al., *Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research*. Circulation, 2008. **117**(25): p. e510-26.
15. Mancia, G., et al., *2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC)*. J Hypertens, 2007. **25**(6): p. 1105-87.

16. Moreno, H., Jr. and A. Coca, *Resistant and refractory hypertension: reflections on pathophysiology and terminology*. Blood Press, 2012. **21**(4): p. 209-10.
17. Townsend, R.R., *Refractory or resistant hypertension*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2002. **4**(1): p. 61.
18. Moreno, H. and D.A. Calhoun, *True resistant hypertension: definition and prevalence*. J Hypertens, 2012. **30**(11): p. 2241-2; author reply 2242-2243.
19. Ram, C.V. and R.L. Silverstein, *"Refractory" resistant hypertension: new terminology for an old problem*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2012. **14**(1): p. 5-6.
20. Martins, L.C., et al., *Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness*. J Hum Hypertens, 2011. **25**(9): p. 532-8.
21. Figueiredo, V.N., et al., *Vascular stiffness and endothelial dysfunction: Correlations at different levels of blood pressure*. Blood Press, 2012. **21**(1): p. 31-8.
22. Pimenta, E., D.A. Calhoun, and S. Oparil, *Mechanisms and treatment of resistant hypertension*. Arq Bras Cardiol, 2007. **88**(6): p. 683-92.
23. de Souza, W.A., et al., *Intensive monitoring of adherence to treatment helps to identify "true" resistant hypertension*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2009. **11**(4): p. 183-91.
24. Alderman, M.H., et al., *Prevalence of drug resistant hypertension*. Hypertension, 1988. **11**(3 Pt 2): p. II71-5.
25. Andersson, O., *Management of hypertension. Clinical and hemodynamic studies with special reference to patients refractory to treatment*. Acta Med Scand Suppl, 1977. **617**: p. 1-62.
26. Swales, J.D., et al., *Treatment of refractory hypertension*. Lancet, 1982. **1**(8277): p. 894-6.
27. Daugherty, S.L., et al., *Incidence and prognosis of resistant hypertension in hypertensive patients*. Circulation, 2012. **125**(13): p. 1635-42.
28. Lloyd-Jones, D.M., et al., *Differential control of systolic and diastolic blood pressure : factors associated with lack of blood pressure control in the community*. Hypertension, 2000. **36**(4): p. 594-9.
29. Hollenberg, N.K., *The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic*. Curr Hypertens Rep, 2003. **5**(3): p. 183-5.
30. Gupta, A.K., et al., *Baseline predictors of resistant hypertension in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcome Trial (ASCOT): a risk score to identify those at high-risk*. J Hypertens, 2011. **29**(10): p. 2004-13.
31. Jamerson, K., et al., *Benazepril plus amlodipine or hydrochlorothiazide for hypertension in high-risk patients*. N Engl J Med, 2008. **359**(23): p. 2417-28.
32. Persell, S.D., *Prevalence of resistant hypertension in the United States, 2003-2008*. Hypertension, 2011. **57**(6): p. 1076-80.
33. de Souza, W.S., et al., *First Brazilian position on resistant hypertension*. Arq Bras Cardiol, 2012. **99**(1): p. 576-85.
34. Egan, B.M., et al., *Uncontrolled and apparent treatment resistant hypertension in the United States, 1988 to 2008*. Circulation, 2011. **124**(9): p. 1046-58.

35. de la Sierra, A., et al., *Clinical features of 8295 patients with resistant hypertension classified on the basis of ambulatory blood pressure monitoring*. Hypertension, 2011. **57**(5): p. 898-902.
36. Acelajado, M.C., et al., *Refractory hypertension: definition, prevalence, and patient characteristics*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2012. **14**(1): p. 7-12.
37. Hall, J.E., *The kidney, hypertension, and obesity*. Hypertension, 2003. **41**(3 Pt 2): p. 625-33.
38. Ubaid-Girioli, S., et al., *Aldosterone excess or escape: Treating resistant hypertension*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2009. **11**(5): p. 245-52.
39. Nishizaka, M.K., et al., *Validity of plasma aldosterone-to-renin activity ratio in African American and white subjects with resistant hypertension*. Am J Hypertens, 2005. **18**(6): p. 805-12.
40. Gaddam, K., et al., *Rapid reversal of left ventricular hypertrophy and intracardiac volume overload in patients with resistant hypertension and hyperaldosteronism: a prospective clinical study*. Hypertension, 2010. **55**(5): p. 1137-42.
41. Pimenta, E., et al., *Effects of dietary sodium reduction on blood pressure in subjects with resistant hypertension: results from a randomized trial*. Hypertension, 2009. **54**(3): p. 475-81.
42. de la Sierra, A., et al., *Clinical differences between resistant hypertensives and patients treated and controlled with three or less drugs*. J Hypertens, 2012. **30**(6): p. 1211-6.
43. Salles, G.F., et al., *Relation of left ventricular hypertrophy with systemic inflammation and endothelial damage in resistant hypertension*. Hypertension, 2007. **50**(4): p. 723-8.
44. Pimenta, E., K.K. Gaddam, and S. Oparil, *Mechanisms and treatment of resistant hypertension*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2008. **10**(3): p. 239-44.
45. de La Sierra, A., et al., *Abnormalities of vascular function in resistant hypertension*. Blood Press, 2012. **21**(2): p. 104-9.
46. Sierra, C., A. Lopez-Soto, and A. Coca, *Connecting cerebral white matter lesions and hypertensive target organ damage*. J Aging Res, 2011. **2011**: p. 438978.
47. Salles, G., et al., *Combined QT interval and voltage criteria improve left ventricular hypertrophy detection in resistant hypertension*. Hypertension, 2005. **46**(5): p. 1207-12.
48. Salles, G., et al., *Importance of the electrocardiographic strain pattern in patients with resistant hypertension*. Hypertension, 2006. **48**(3): p. 437-42.
49. Levy, D., et al., *Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study*. N Engl J Med, 1990. **322**(22): p. 1561-6.
50. Salles, G.F., et al., *Prognostic impact of baseline and serial changes in electrocardiographic left ventricular hypertrophy in resistant hypertension*. Am Heart J, 2010. **159**(5): p. 833-40.
51. Redfield, M.M., et al., *Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic*. JAMA, 2003. **289**(2): p. 194-202.
52. Braunwald, E., et al., *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 7th edition. 2006.

53. White, W.B., *Ambulatory blood pressure monitoring as an investigative tool for characterizing resistant hypertension and its rational treatment*. J Clin Hypertens (Greenwich), 2007. **9**(1 Suppl 1): p. 25-30.
54. Nieto, F.J., et al., *Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study*. Sleep Heart Health Study. JAMA, 2000. **283**(14): p. 1829-36.
55. Peppard, P.E., et al., *Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension*. N Engl J Med, 2000. **342**(19): p. 1378-84.
56. Pedrosa, R.P., et al., *Obstructive sleep apnea: the most common secondary cause of hypertension associated with resistant hypertension*. Hypertension, 2011. **58**(5): p. 811-7.
57. Conn, J.W., *Presidential address. I. Painting background. II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome*. J Lab Clin Med, 1955. **45**(1): p. 3-17.
58. Rossi, G.P., et al., *A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients*. J Am Coll Cardiol, 2006. **48**(11): p. 2293-300.
59. Gordon, R.D., et al., *High incidence of primary aldosteronism in 199 patients referred with hypertension*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1994. **21**(4): p. 315-8.
60. Mosso, L., et al., *Primary aldosteronism and hypertensive disease*. Hypertension, 2003. **42**(2): p. 161-5.
61. Calhoun, D.A., et al., *Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension*. Hypertension, 2002. **40**(6): p. 892-6.
62. Galloway, B.J., et al., *Screening for primary aldosteronism without discontinuing hypertensive medications: plasma aldosterone-renin ratio*. Am J Kidney Dis, 2001. **37**(4): p. 699-705.
63. Eide, I.K., et al., *Low-renin status in therapy-resistant hypertension: a clue to efficient treatment*. J Hypertens, 2004. **22**(11): p. 2217-26.
64. Strauch, B., et al., *Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region*. J Hum Hypertens, 2003. **17**(5): p. 349-52.
65. Rocha, R., et al., *Aldosterone induces a vascular inflammatory phenotype in the rat heart*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **283**(5): p. H1802-10.
66. Brilla, C.G. and K.T. Weber, *Mineralocorticoid excess, dietary sodium, and myocardial fibrosis*. J Lab Clin Med, 1992. **120**(6): p. 893-901.
67. Rossi, G.P., et al., *Changes in left ventricular anatomy and function in hypertension and primary aldosteronism*. Hypertension, 1996. **27**(5): p. 1039-45.
68. Fox, C.S., et al., *Cross-sectional relations of serum aldosterone and urine sodium excretion to urinary albumin excretion in a community-based sample*. Kidney Int, 2006. **69**(11): p. 2064-9.
69. Nishizaka, M.K., et al., *Impaired endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in hypertensive subjects with hyperaldosteronism*. Circulation, 2004. **109**(23): p. 2857-61.
70. Holaj, R., et al., *Increased intima-media thickness of the common carotid artery in primary aldosteronism in comparison with essential hypertension*. J Hypertens, 2007. **25**(7): p. 1451-7.
71. Rossi, G.P., et al., *Comparison of the captopril and the saline infusion test for excluding aldosterone-producing adenoma*. Hypertension, 2007. **50**(2): p. 424-31.

72. Sarafidis, P.A., P. Georgianos, and G.L. Bakris, *Resistant hypertension-its identification and epidemiology*. Nat Rev Nephrol, 2012. **9**(1): p. 51-8.
73. Cuspidi, C., et al., *High prevalence of cardiac and extracardiac target organ damage in refractory hypertension*. J Hypertens, 2001. **19**(11): p. 2063-70.
74. Aguilera, M.T., et al., *Effect of alcohol abstinence on blood pressure: assessment by 24-hour ambulatory blood pressure monitoring*. Hypertension, 1999. **33**(2): p. 653-7.
75. Sander, G.E. and T.D. Giles, *Resistant hypertension: concepts and approach to management*. Curr Hypertens Rep, 2011. **13**(5): p. 347-55.
76. Cornelissen, V.A., et al., *Impact of resistance training on blood pressure and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized, controlled trials*. Hypertension, 2011. **58**(5): p. 950-8.
77. Salles, G.F., C.R. Cardoso, and E.S. Muxfeldt, *Prognostic influence of office and ambulatory blood pressures in resistant hypertension*. Arch Intern Med, 2008. **168**(21): p. 2340-6.
78. Mancia, G., et al., *Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document*. Blood Press, 2009. **18**(6): p. 308-47.
79. Chapman, N., et al., *Effect of spironolactone on blood pressure in subjects with resistant hypertension*. Hypertension, 2007. **49**(4): p. 839-45.
80. Nishizaka, M.K., M.A. Zaman, and D.A. Calhoun, *Efficacy of low-dose spironolactone in subjects with resistant hypertension*. Am J Hypertens, 2003. **16**(11 Pt 1): p. 925-30.
81. Zannad, F., *Aldosterone antagonist therapy in resistant hypertension*. J Hypertens, 2007. **25**(4): p. 747-50.
82. Oliver, J.J., et al., *Clinical potential of combined organic nitrate and phosphodiesterase type 5 inhibitor in treatment-resistant hypertension*. Hypertension, 2010. **56**(1): p. 62-7.
83. Oliver, J.J., V.P. Melville, and D.J. Webb, *Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension*. Hypertension, 2006. **48**(4): p. 622-7.
84. Consolim-Colombo, F.M., K. De Angelis, and M.C. Irigoyen, *Terapia de Estimulação dos Barorreceptores*. Revista Brasileira de Hipertensão, 2011. **18**(4): p. 149-52.
85. Schwartz, S.I., et al., *Chronic carotid sinus nerve stimulation in the treatment of essential hypertension*. Am J Surg, 1967. **114**(1): p. 5-15.
86. Bisognano, J.D., et al., *Baroreflex activation therapy lowers blood pressure in patients with resistant hypertension: results from the double-blind, randomized, placebo-controlled rheos pivotal trial*. J Am Coll Cardiol, 2011. **58**(7): p. 765-73.
87. Wustmann, K., et al., *Effects of chronic baroreceptor stimulation on the autonomic cardiovascular regulation in patients with drug-resistant arterial hypertension*. Hypertension, 2009. **54**(3): p. 530-6.
88. Brito, T.M. and L.A. Bortolotto, *Denervação Renal no Tratamento de Hipertensão Arterial Resistente*. Revista Brasileira de Hipertensão, 2011. **18**(4): p. 145-8.
89. Morrissey, D.M., V.S. Brookes, and W.T. Cooke, *Sympathectomy in the treatment of hypertension; review of 122 cases*. Lancet, 1953. **1**(6757): p. 403-8.
90. Dibona, G.F., *Sympathetic Nervous System and Hypertension*. Hypertension, 2013.

91. Roscani, M.G., L.S. Matsubara, and B.B. Matsubara, *Heart failure with normal ejection fraction*. Arq Bras Cardiol, 2010. **94**(5): p. 652-60, 694-702.
92. Roelandt, J.R.T.C. and M. Pozzoli, *Non-Invasive Assessment of Left Ventricular Diastolic (Dys) Function and Filling Pressure*. Heart Views, 2001. **2**(3).
93. Zile, M.R. and D.L. Brutsaert, *New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment*. Circulation, 2002. **105**(12): p. 1503-8.
94. Zile, M.R. and D.L. Brutsaert, *New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function*. Circulation, 2002. **105**(11): p. 1387-93.
95. Cooper, G.t., *Cardiocyte cytoskeleton in hypertrophied myocardium*. Heart Fail Rev, 2000. **5**(3): p. 187-201.
96. Tagawa, H., et al., *Cytoskeletal mechanics in pressure-overload cardiac hypertrophy*. Circ Res, 1997. **80**(2): p. 281-9.
97. Zile, M.R., et al., *Constitutive properties of adult mammalian cardiac muscle cells*. Circulation, 1998. **98**(6): p. 567-79.
98. Harris, T.S., et al., *Constitutive properties of hypertrophied myocardium: cellular contribution to changes in myocardial stiffness*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **282**(6): p. H2173-82.
99. Weber, K.T., *Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network*. J Am Coll Cardiol, 1989. **13**(7): p. 1637-52.
100. Weber, K.T. and C.G. Brilla, *Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system*. Circulation, 1991. **83**(6): p. 1849-65.
101. Covell, J.W., *Factors influencing diastolic function. Possible role of the extracellular matrix*. Circulation, 1990. **81**(2 Suppl): p. III155-8.
102. Brutsaert, D.L., et al., *Cardiac endothelium and myocardial function*. Cardiovasc Res, 1998. **38**(2): p. 281-90.
103. Paulus, W.J., *Beneficial effects of nitric oxide on cardiac diastolic function: 'the flip side of the coin'*. Heart Fail Rev, 2000. **5**(4): p. 337-44.
104. Zile, M.R., et al., *Heart failure with a normal ejection fraction: is measurement of diastolic function necessary to make the diagnosis of diastolic heart failure?* Circulation, 2001. **104**(7): p. 779-82.
105. Zile, M.R. and J.M. Simsic, *Diastolic heart failure: diagnosis and treatment*. Clin Cornerstone, 2000. **3**(2): p. 13-24.
106. Paulus, W.J., et al., *How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology*. Eur Heart J, 2007. **28**(20): p. 2539-50.
107. Philbin, E.F. and T.A. Rocco, Jr., *Use of angiotensin-converting enzyme inhibitors in heart failure with preserved left ventricular systolic function*. Am Heart J, 1997. **134**(2 Pt 1): p. 188-95.
108. Senni, M., et al., *Congestive heart failure in the community: a study of all incident cases in Olmsted County, Minnesota, in 1991*. Circulation, 1998. **98**(21): p. 2282-9.

109. Vasan, R.S., et al., *Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: prevalence and mortality in a population-based cohort*. J Am Coll Cardiol, 1999. **33**(7): p. 1948-55.
110. Kitzman, D.W., et al., *Importance of heart failure with preserved systolic function in patients > or = 65 years of age*. CHS Research Group. Cardiovascular Health Study. Am J Cardiol, 2001. **87**(4): p. 413-9.
111. Weiss, J.L., J.W. Frederiksen, and M.L. Weisfeldt, *Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure*. J Clin Invest, 1976. **58**(3): p. 751-60.
112. Klein, A.L. and M.J. Garcia, *Diastology : clinical approach to diastolic heart failure*. 1st ed 2008, Philadelphia: Saunders/Elsevier. xvii, 451 p.
113. Oh, J.K., J.B. Seward, and A.J. Tajik, *The Echo Manual* 2006: Lippincott Williams & Wilkins.
114. Armstrong, W.F. and T. Ryan, *Feigenbaum's Echocardiography* 2012: Wolters Kluwer Health.
115. Oh, J.K., S.J. Park, and S.F. Nagueh, *Established and novel clinical applications of diastolic function assessment by echocardiography*. Circ Cardiovasc Imaging, 2011. **4**(4): p. 444-55.
116. Nagueh, S.F., et al., *Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography*. J Am Soc Echocardiogr, 2009. **22**(2): p. 107-33.
117. Rakowski, H., et al., *Canadian consensus recommendations for the measurement and reporting of diastolic dysfunction by echocardiography: from the Investigators of Consensus on Diastolic Dysfunction by Echocardiography*. J Am Soc Echocardiogr, 1996. **9**(5): p. 736-60.
118. Chahal, N.S., et al., *Normative reference values for the tissue Doppler imaging parameters of left ventricular function: a population-based study*. Eur J Echocardiogr, 2010. **11**(1): p. 51-6.
119. Parekh, N. and A.S. Maisel, *Utility of B-natriuretic peptide in the evaluation of left ventricular diastolic function and diastolic heart failure*. Curr Opin Cardiol, 2009. **24**(2): p. 155-60.
120. Yamaguchi, H., et al., *Elevation of plasma brain natriuretic peptide is a hallmark of diastolic heart failure independent of ventricular hypertrophy*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**(1): p. 55-60.
121. Lubien, E., et al., *Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings*. Circulation, 2002. **105**(5): p. 595-601.
122. Iwanaga, Y., et al., *B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(4): p. 742-8.
123. Vanderheyden, M., et al., *Wall stress modulates brain natriuretic peptide production in pressure overload cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol, 2004. **44**(12): p. 2349-54.
124. Krishnaswamy, P., et al., *Utility of B-natriuretic peptide levels in identifying patients with left ventricular systolic or diastolic dysfunction*. Am J Med, 2001. **111**(4): p. 274-9.
125. Grewal, J., et al., *BNP and NT-proBNP predict echocardiographic severity of diastolic dysfunction*. Eur J Heart Fail, 2008. **10**(3): p. 252-9.

126. McKelvie, R.S., et al., *Baseline plasma NT-proBNP and clinical characteristics: results from the irbesartan in heart failure with preserved ejection fraction trial*. J Card Fail, 2010. **16**(2): p. 128-34.
127. Shibata, M.C., et al., *Study of the Effects of Nebivolol Intervention on Outcomes and Rehospitalisation in Seniors with Heart Failure (SENIORS). Rationale and design*. Int J Cardiol, 2002. **86**(1): p. 77-85.
128. Ahmed, A., et al., *Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial*. Circulation, 2006. **114**(5): p. 397-403.
129. Massie, B.M., et al., *Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction*. N Engl J Med, 2008. **359**(23): p. 2456-67.
130. Hunt, S.A., et al., *2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation*. J Am Coll Cardiol, 2009. **53**(15): p. e1-e90.
131. Zile, M.R. and J. Nappi, *Diastolic Heart Failure*. Curr Treat Options Cardiovasc Med, 2000. **2**(5): p. 439-450.
132. Klingbeil, A.U., et al., *A meta-analysis of the effects of treatment on left ventricular mass in essential hypertension*. Am J Med, 2003. **115**(1): p. 41-6.
133. Lakhani, M. and S. Fein, *Effects of obesity and subsequent weight reduction on left ventricular function*. Cardiol Rev, 2011. **19**(1): p. 1-4.
134. Solomon, S.D., et al., *Effect of angiotensin receptor blockade and antihypertensive drugs on diastolic function in patients with hypertension and diastolic dysfunction: a randomised trial*. Lancet, 2007. **369**(9579): p. 2079-87.
135. Muller-Brunotte, R., et al., *Tissue velocity echocardiography shows early improvement in diastolic function with irbesartan and atenolol therapy in patients with hypertensive left ventricular hypertrophy. Results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA)*. Am J Hypertens, 2006. **19**(9): p. 927-36.
136. Friedrich, S.P., et al., *Intracardiac angiotensin-converting enzyme inhibition improves diastolic function in patients with left ventricular hypertrophy due to aortic stenosis*. Circulation, 1994. **90**(6): p. 2761-71.
137. Lorell, B.H. and W. Grossman, *Cardiac hypertrophy: the consequences for diastole*. J Am Coll Cardiol, 1987. **9**(5): p. 1189-93.
138. Oghlakian, G.O., I. Sipahi, and J.C. Fang, *Treatment of heart failure with preserved ejection fraction: have we been pursuing the wrong paradigm?* Mayo Clin Proc, 2011. **86**(6): p. 531-9.
139. Hernandez, A.F., et al., *Clinical effectiveness of beta-blockers in heart failure: findings from the OPTIMIZE-HF (Organized Program to Initiate Lifesaving Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure) Registry*. J Am Coll Cardiol, 2009. **53**(2): p. 184-92.
140. Schwartz, B.G., et al., *Cardiac uses of phosphodiesterase-5 inhibitors*. J Am Coll Cardiol, 2012. **59**(1): p. 9-15.

141. Boswell-Smith, V., D. Spina, and C.P. Page, *Phosphodiesterase inhibitors*. Br J Pharmacol, 2006. **147 Suppl 1**: p. S252-7.
142. Sutherland, E.W. and T.W. Rall, *Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles*. J Biol Chem, 1958. **232**(2): p. 1077-91.
143. Ashman, D.F., et al., *Isolation of adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine 3', 5'-monophosphate from rat urine*. Biochem Biophys Res Commun, 1963. **11**: p. 330-4.
144. Beavo, J.A., J.G. Hardman, and E.W. Sutherland, *Hydrolysis of cyclic guanosine and adenosine 3',5'-monophosphates by rat and bovine tissues*. J Biol Chem, 1970. **245**(21): p. 5649-55.
145. Beavo, J.A., *Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms*. Physiol Rev, 1995. **75**(4): p. 725-48.
146. Bender, A.T. and J.A. Beavo, *Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use*. Pharmacol Rev, 2006. **58**(3): p. 488-520.
147. Corbin, J.D., S.H. Francis, and D.J. Webb, *Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction*. Urology, 2002. **60**(2 Suppl 2): p. 4-11.
148. Corbin, J.D. and S.H. Francis, *Pharmacology of phosphodiesterase-5 inhibitors*. Int J Clin Pract, 2002. **56**(6): p. 453-9.
149. Hamet, P. and J.F. Coquil, *Cyclic GMP binding and cyclic GMP phosphodiesterase in rat platelets*. J Cyclic Nucleotide Res, 1978. **4**(4): p. 281-90.
150. Coquil, J.F., et al., *Characteristics of a new binding protein distinct from the kinase for guanosine 3':5'-monophosphate in rat platelets*. Biochim Biophys Acta, 1980. **631**(1): p. 148-65.
151. Francis, S.H., T.M. Lincoln, and J.D. Corbin, *Characterization of a novel cGMP binding protein from rat lung*. J Biol Chem, 1980. **255**(2): p. 620-6.
152. Wallis, R.M., et al., *Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function, and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro*. Am J Cardiol, 1999. **83**(5A): p. 3C-12C.
153. Das, A., L. Xi, and R.C. Kukreja, *Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling*. J Biol Chem, 2005. **280**(13): p. 12944-55.
154. Cheitlin, M.D., et al., *ACC/AHA expert consensus document. Use of sildenafil (Viagra) in patients with cardiovascular disease. American College of Cardiology/American Heart Association*. J Am Coll Cardiol, 1999. **33**(1): p. 273-82.
155. Lu, Z., et al., *Oxidative stress regulates left ventricular PDE5 expression in the failing heart*. Circulation, 2010. **121**(13): p. 1474-83.
156. Zhang, M., et al., *Expression, activity, and pro-hypertrophic effects of PDE5A in cardiac myocytes*. Cell Signal, 2008. **20**(12): p. 2231-6.
157. Nichols, D.J., G.J. Muirhead, and J.A. Harness, *Pharmacokinetics of sildenafil after single oral doses in healthy male subjects: absolute bioavailability, food effects and dose proportionality*. Br J Clin Pharmacol, 2002. **53 Suppl 1**: p. 5S-12S.
158. Wright, P.J., *Comparison of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors*. Int J Clin Pract, 2006. **60**(8): p. 967-75.

159. Sussman, D.O., *Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and efficacy of phosphodiesterase type 5 inhibitors*. J Am Osteopath Assoc, 2004. **104**(3 Suppl 4): p. S11-5.
160. Kukreja, R.C., et al., *Pharmacological preconditioning with sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications*. Vascu Pharmacol, 2005. **42**(5-6): p. 219-32.
161. Kukreja, R.C., et al., *Emerging new uses of phosphodiesterase-5 inhibitors in cardiovascular diseases*. Exp Clin Cardiol, 2011. **16**(4): p. e30-5.
162. Goldstein, I., et al., *Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction*. Sildenafil Study Group. N Engl J Med, 1998. **338**(20): p. 1397-404.
163. Carson, C.C., et al., *The efficacy and safety of tadalafil: an update*. BJU Int, 2004. **93**(9): p. 1276-81.
164. Ockaili, R., et al., *Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial K(ATP) channels in rabbits*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **283**(3): p. H1263-9.
165. Das, A., et al., *ERK phosphorylation mediates sildenafil-induced myocardial protection against ischemia-reperfusion injury in mice*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **296**(5): p. H1236-43.
166. Salloum, F.N., et al., *Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase g-dependent generation of hydrogen sulfide*. Circulation, 2009. **120**(11 Suppl): p. S31-6.
167. Ahmad, N., et al., *Long-acting phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, induces sustained cardioprotection against lethal ischemic injury*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(1): p. H387-91.
168. Fisher, P.W., et al., *Phosphodiesterase-5 inhibition with sildenafil attenuates cardiomyocyte apoptosis and left ventricular dysfunction in a chronic model of doxorubicin cardiotoxicity*. Circulation, 2005. **111**(13): p. 1601-10.
169. Koka, S., et al., *Long-acting phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy without interfering with chemotherapeutic effect*. J Pharmacol Exp Ther, 2010. **334**(3): p. 1023-30.
170. Bocchi, E.A., et al., *Sildenafil effects on exercise, neurohormonal activation, and erectile dysfunction in congestive heart failure: a double-blind, placebo-controlled, randomized study followed by a prospective treatment for erectile dysfunction*. Circulation, 2002. **106**(9): p. 1097-103.
171. Lewis, G.D., et al., *Sildenafil improves exercise hemodynamics and oxygen uptake in patients with systolic heart failure*. Circulation, 2007. **115**(1): p. 59-66.
172. Takimoto, E., et al., *Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy*. Nat Med, 2005. **11**(2): p. 214-22.
173. Gori, T., et al., *Sildenafil prevents endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion via opening of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels: a human in vivo study*. Circulation, 2005. **111**(6): p. 742-6.
174. Katz, S.D., et al., *Acute type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure*. J Am Coll Cardiol, 2000. **36**(3): p. 845-51.
175. Wolk, R., et al., *Blood pressure lowering effects of a new long-acting inhibitor of phosphodiesterase 5 in patients with mild to moderate hypertension*. Hypertension, 2009. **53**(6): p. 1091-7.